Aus dem Zentralinstitut für Anaesthesiologie
der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. R. Schorer

UNTERSUCHUNG ÜBER DIE WIRKUNG DES MAGNESIUM - ASPARTAT - ACD - STABILISATORS AUF DEN KOHLENHYDRATSTOFFWECHSEL UND DIE SAUERSTOFFTRANSPORTFUNKTION VON BLUTKONSERVEN

INAUGURAL – DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Klinische Medizin
der Eberhard–Karls–Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
GEROLD KLÄGER
aus Rottweil a/N

1978

Aus dem Zentralinstitut für Anaesthesiologie
der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. R. Schorer

UNTERSUCHUNG ÜBER DIE WIRKUNG DES MAGNESIUM - ASPARTAT - ACD - STABILISATORS AUF DEN KOHLENHYDRATSTOFFWECHSEL UND DIE SAUERSTOFFTRANSPORTFUNKTION VON BLUTKONSERVEN

INAUGURAL – DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Klinische Medizin
der Eberhard–Karls–Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
GEROLD KLÄGER
aus Rottweil a/N

1978

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan:	Professor Dr. H.– E. Hoffmeister
1. Berichterstatter:	Professor Dr. W. Heller
	(Professor Dr. L. Koslowski)
2. Berichterstatter:	Priv.- Doz. Dr. H. Junger
	(Professor Dr. R. Schorer)

gedruckt und geschrieben bei H.- J. Köhler, Tübingen , Neue Str. 11

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

Seite

1. E I N F Ü H R U N G 1

2. M E T H O D I K und M A T E R I A L 5

a) Untersuchungsbedingungen
b) Bestimmungsprinzipien
c) Bestimmungsansätze
d) Statistische Auswertung

3. E R G E B N I S S E 19

a) Einzelergebnisse
b) Hämatologie und Gerinnung
c) Graphische Darstellung

4. D I S K U S S I O N 36

a) Methodik
b) Kohlenhydratstoffwechsel
c) Sauerstofftransportfunktion

5. Z U S A M M E N F A S S U N G 59

6. L I T E R A T U R 60

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41536520_0017

E I N F Ü H R U N G

Das geschlossene System der Blutkonserve verhindert einen natürlichen Abtransport der Stoffwechselzwischen- und endprodukte. Es kommt zur Ansammlung dieser Stoffe und zum Aufbau von Ungleichgewichten innerhalb der Zelle, zwischen Membran und der löslichen Phase sowie zwischen Plasma und Blutzelle. Dies führt zur Störung des normalen Stoffwechselablaufs und löst endlich den Zusammenbruch der Zellstruktur aus.

Ziel der Konservierung des Blutes ist es, durch temporäre Hemmung der Abbauprozesse und Zusatz von Substraten und Effektoren den Stoffwechel der Blutzelle aufrechtzuerhalten, die Entstehung neuer Stoffwechselgleichgewichte zu ermöglichen bzw. den schädigenden Einfluß von Stoffwechselendprodukten herabzusetzen. Die Struktur und Funktion der Blutzellen muß soweit erhalten bleiben, daß diese bei Rückführung in den menschlichen Organismus ihre biologischen Funktionen in einer bestimmten Zeit voll erfüllen können.

Mit dem Ausbau der modernen Intensivmedizin und mit Zunahme der herzchirurgischen Eingriffe wurde notwendigerweise auch das Transfusionswesen fortentwickelt.
Die Direktübertragung von Blut, ein unbewegliches und aufwendiges Verfahren, ist durch die Entwicklung moderner Konservierungsmethoden und Einrichtung zentraler Blutbanken ganz in den Hintergrund getreten.

Den ersten praktisch brauchbaren Stabilisator entwickelten Rous und Turner 1916, als sie Blut durch Zugabe von Citrat und Glucose bis 4° C etwa 14 Tage haltbar machen konnten (92). Eine weitere Verbesserung brachte die Ansäuerung mit Citronensäure. Die klassische Konservierungslösung ACD = Acid - Citrat - Dextrose war damit gefunden (92). Untersuchungen, die die Überlebensdauer konservierter Erythrozythen zum Gegenstand hatten, ergaben, daß in einem sauren citrathaltigen

Stabilisator Blutzellen 21 Tage bei 4° C haltbar sind, d.h. nach der Infusion überleben mindestens 70 % dieser Zellen die nächsten 24 Stunden (25, 73). Rapoport wies durch vergleichende Untersuchungen nach, daß die Abnahme energiereicher Phosphate ein Indiz für den Konservierungsschaden ist (65). Diese Abnahme ist begleitet von einer Drosselung der Glykolysekapazität und einer Verminderung des aktiven Transports der Zellenmembran, was zwangsläufig zu Strukturveränderungen der Blutzellen führt (26). Später stellte sich heraus, daß die ATP - Konzentration, die starken individuellen Schwankungen unterliegt, nur ein Parameter für die Lebensfähigkeit der Blutzellen ist (3). Eine Verbesserung der Überlebensrate bei wenig oder nur sehr ungleichmäßig veränderter ATP - Konzentration wird bei Erhöhung der 2,3 - DPG - Konzentration in Versuchen mit Inosinzusätzen nachgewiesen (2, 83). In neuerer Zeit geht das Bestreben dahin die als noch nicht optimal anzusehende ACD - Lösung entweder zu ersetzen oder zu modifizieren. Während der CPD - Citrat - Phosphat - Dextrose - Stabilisator bereits in einigen Ländern als gleichwertiger Ersatz für ACD verwendet wird (53, 81), ist die Anwendung einer modifizierten ACD - IA = Acid - Citrat - Dextrose - Inosin - Adenin - Stabilisatorlösung trotz ihrer Überlegenheit noch nicht über das klinische Erprobungsstadium hinausgekommen (81, 82, 83).
Im folgenden werden unsere Untersuchungsergebnisse über das Mg - Asp - ACD = Magnesium -Aspartat -ACD - Konservierungsmittel dargestellt. Im Vergleich mit der üblichen Konservierung, bei der ACD als Stabilisator verwendet wird, werden die nur Mg - ASP - spezifischen Auswirkungen auf konserviertes Blut nachgewiesen. Dazu wurden im Labor der chirurgischen Universitätsklinik Tübingen die Vollblutparameter Glucose, Pyruvat, Lactat, Diphosphoglycerat, Hämatokrit und von Schaible Adenosintri-di-monophosphat sowie im Serum anorganisches Phosphat, Hämoglobin, Natrium, Kalium und Chlor bestimmt (75). Um auch Aussagen über die Blutgase machen zu können bestimmten wir mit einem pH/Blutgas - Analyser den pH, Sauerstoff -, Kohlendioxydpartialdruck und mit einem

Oximeter Hämoglobin und Sauerstoffsättigung. Da diese Werte mit neuen Geräten zum erstenmal bestimmt wurden, sind Vergleiche mit später erfolgenden Untersuchungen unbedingt nötig, um etwas über die Valenz unserer Untersuchungsergebnisse aussagen zu können.

Der ACD - Stabilisator war schon Gegenstand vieler Untersuchungen (53). Eine Untersuchung über Mg - Asp - ACD -konserviertes Blut wurde von uns durchgeführt. Der Chelatkomplex Mg - ASP findet jedoch wegen seiner "restaurativen, regenerativen und stabilisierenden Stoffwechselwirkung und direkten Schutzfunktion auf die morphologische Struktur der Zellmembran in der Intensivmedizin allgemein Verwendung" (54). Dem Nachweis dieser Wirkungen auf die Blutzellen, die Mg-Asp-ACD stabilisert worden sind, diente diese Untersuchung. Wir sind überzeugt, daß sich Mg - ASP, wenn es keine negativen Auswirkungen auf konserviertes Blut hat, durch seine schon oben grob umrissenen pharmakologischen Wirkungen, wenn nicht in der Blutkonserve so doch im Empfängerorganismus positiv auswirkt.

Es galt zu untersuchen :

1. die Auswirkungen auf den Kohlenhydratstoffwechsel
2. die Auswirkungen auf den Energiestoffwechsel
3. die Auswirkungen auf die Zellintegrität
4. die Auswirkungen auf die Ionenzusammensetzung
5. die Auswirkungen auf die Sauerstofftransportfunktion des Konservenblutes.

Die Punkte 2, 3 und 4 hat Schaible untersucht (75). Soweit seine Untersuchungsergebnisse zur Klärung bestimmter Sachverhalte von Belang sind, werden sie mitdiskutiert. Der Kohlenhydratstoffwechsel und die Sauerstofftransportfunktion des Konservenblutes sind Gegenstand dieser Arbeit.

Die Erythrozyten spielen in quantitativer Hinsicht unter den Blutzellen eine dominierende Rolle (60). Ihr Stoffwechsel, der hauptsächlich im glykolytischen Abbau von Glucose zu Lactat besteht, ist bestimmend für die Metabolitenkonzentration im Konservenblut und wird deshalb ausführlich erörtert werden.

Die übrigen Blutzellen Thrombozyten und Leukozyten finden Beachtung, soweit die Konservierungsmethode für ihren Stoffwechsel von Bedeutung ist. Die Sauerstofftransportfunktion des Blutes wird vor allem in Bezug auf 2,3-DPG betrachtet. Dieser Metabolit hat in der Literatur zur Blutkonservierung in den letzten Jahren eine herausragende Bedeutung erlangt (2, 9, 15, 17, 77).

M E T H O D I K u n d M A T E R I A L

Blutabnahme:
Zur Blutspende wurden gesunde Erwachsene gewählt. Es waren 5 weibliche und 22 männliche Spender im Alter zwischen 20 und 30 Jahren. Pro Bestimmungstag wurden 3 Spender aufgefordert nüchtern zur Blutabnahme zu erscheinen. Unter Grundumsatzbedingungen wurde dann mit einem Transfusionsbesteck aus der Cubitalvene Blut entnommen und in 100 ml "Normkonservenflaschen" übertragen.

Wir füllten abwechselnd je 4 7,5 ml ACD - und 4 10,5 ml Mg - ASP - ACD - Stabilisator enthaltende Flaschen ad 50 ml mit Blut vom gleichen Spender auf. Es wurde also jedem Spender ungefähr 330 ml Blut aus der ungestauten Armvene entnommen und auf die sterilen, ein geringes Vakuum enthaltenden Konservenflaschen verteilt (43, 68, 69).

Lagerung:
Nach der Abnahme ließen wir diese 24 Konservenflaschen für 1 Stunde bei Zimmertemperatur stehen, um zu vermeiden, daß die natürliche Bactericidi des Blutes vorzeitig unwirksam wurde (50). Danach wurden die Flaschen in eine erschütterungsfreie 4° C temperierte Kühlzelle zur Lagerung gebracht. Die Lagerungszeit wurde auf 1, 3, 7 und 21 Tage festgesetzt (81).

Untersuchungsgang:
Nach Ablauf der festgesetzten Lagerungszeit wurde das konservierte Blut untersucht. Über den Gummipropf wurde mit einer 5 ml Plastik-Einmalspritze anaerob Blut für die Blutgasanalyse entnommen und sofort analysiert. Nach Enteiweißung entsprechender Blutmengen wurde Serum und Plasma durch Zentrifugieren (10 Minuten lange mit 3000 U/min) gewonnen. Die Überstände wurden danach sofort durch Umleeren in bereitgestellte Reagenzgläser vom Blutkuchen getrennt. Die Serumparameter anorganisches Phosphat, Hämoglobin und

Magnesium waren für Bestimmungen zu einem späteren Zeitpunkt vorgesehen, deshalb wurde eine entsprechende Serummenge eingefroren. Ebenso wurde mit den Überständen von 2,3-DPG und Glucose verfahren. Zur sofortigen Bestimmung der Parameter Natrium, Kalium und Chlor wurde eine entsprechende Serummenge in die Routine gegeben. Bei den übrigen Parametern wurde nach den unten angegebenen Bestimmungsprinzipien verfahren.

Vorserie:
Um mit der Untersuchungstechnik vertraut zu werden, vor allem aber um eventuelle unvorhersehbare negative Auswirkungen des Konservierungszusatzes Magnesium - Aspartat auf Gerinnung und Blutzellmorphologie durch Dosisverminderung vorzubeugen, legten wir eine Vorserie an. Wir untersuchten Blut von 6 Spendern über einen Lagerungszeitraum von 3 Wochen. Es wurde bei der Untersuchung so vorgegangen wie oben schon beschrieben wurde. Zusätzlich untersuchten wir Blutausstriche, um uns ein Bild über die eventuellen morphologischen Veränderungen der Blutzellen machen zu können. Die Glucosekonzentration war nicht reduziert und entsprach mit 25 g der Menge im ACD - Stabilisator.

Einige Daten zu den Stabilisatoren selbst :

	ACD-Stabilisator	Mg-ASP-ACD-Stab.
osmotischer Druck in mosmol	375 (n = 3)	550 (n = 3)
pH	4,9 (n = 3)	4,6 (n = 3)
Mg - ASP	—	0,6 g

Formeln zu den verwendeten Stabilisatorlösungen (53)

Kontrolle : ACD - Lösung

22,0 g Natrium citricum
8,0 g Acidum citricum
25,0 g saccharum amylaceum

Probe : Mg - Asp - ACD - Lösung

22,0 g Natrium citricum
8,0 g Acidum citricum
12,0 g Saccharum amylaceum
0,6 g Magnesium aspartatum

Bestimmungsprinzipien

Glucose im Vollblut

Methode : GOD - Perid - Methode (85)

Prinzip : Glucose wird durch das spezifische Enzym Glucose-Oxydase (GOD) zu Glukonolacton oxydiert, das in wässriger Lösung in Gluconsäure übergeht.

$$\text{Glucose} + O_2 + H_2O \xrightarrow{\text{GOD}} \text{Gluconsäure} + H_2O_2$$

Das hierbei entstehende Wasserstoffperoxid oxydiert in Gegenwart von Peroxydase (POD) zu einer blaugrün gefärbten Verbindung

$$H_2O_2 + DH_2 \xrightarrow{\text{POD}} D + 2\ H_2O$$

Die Intensität des Farbstoffes (D) ist proportional zur Glucosekonzentration und wird bei einer Wellenlänge von 420 nm photometrisch bestimmt.

2,3-Diphosphoglyzerat im Vollblut

Methode nach Lowry et al. (79)

Prinzip : 2,3-DPG wird zu 3-PGA und anorganisches Phosphat hydrolisiert. Das Katalysierende Enzym ist 2,3-DPG-phosphatase. 2-Phosphoglycolsäure wird als Stimulator dieser Reaktion gebraucht.

$$\text{2,3-DPG} \xrightarrow[\text{2-Phosphoglycolsäure}]{\text{2,3-DPG-phosphatase}} \text{3-PGA} + P_i$$

3-PGA reagiert mit ATP in Gegenwart von PGK zu 1,3-DPG und ADP.

$$\text{3-PGA} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{PGK}} \text{1,3-DPG} + \text{ADP}$$

1,3-DPG oxidiert NADH + H^+ zu NAD^+ in Gegenwart von GAPD und wird reduziert zu G-3-D

$$\text{1,3-DPG} + \text{NADH} + H^+ \xrightarrow{\text{GAPD}} \text{G-3-P} + NAD^+$$

Die NAD^+-Konzentration, die der 2,3-DPG-Konzentration im Vollblut entspricht, wurde photometrisch bei einer Wellenlänge von 340 nm bestimmt.

Pyruvat im Vollblut (16)

Methode nach Czok, R. und Lamprecht, W. in H.U. Bergmeyer

Prinzip : Pyruvat wird in der von LDH katalysierten enzymatischen Reaktion durch NADH + H^+ zu L - Lactat reduziert.

$$\text{Pyruvat} + \text{NADH} + H^+ \xrightarrow{\text{LDH}} \text{L - Lactat} + NAD^+$$

Das Gleichgewicht liegt weit auf der Seite von L - Lactat und NAD^+. Das während der Reaktion verbrauchte NADH + H^+ ist äquivalent der Pyruvatkonzentration im Vollblut und dient als Meßgröße. Es wird auf Grund seiner Absorption bei einer Wellenlänge von 366 nm photometrisch bestimmt.

Lactat im Vollblut

Methode nach Hohorst, H. in H.U. Bergmeyer (31)

Prinzip : L - Lactat wird in der von der LDH katalysierten enzymatischen Reaktion durch NAD^+ zu Pyruvat oxidiert.

$$\text{L - Lactat} + NAD^+ \xrightarrow{\text{LDH}} \text{Pyruvat} + \text{NADH} + H^+$$

Das Gleichgewicht der Reaktion liegt weit auf der Seite von L - Lactat und NAD^+. Durch NAD^+ - Überschuß, alkalisches Milieu und Abfangen des gebildeten Pyruvats mit Hydrazin kann das Gleichgewicht völlig auf die Seite von Pyruvat und NADH + H^+ verschoben werden. Das während der Reaktion gebildete NADH + H^+ ist äquivalent zur L - Lactat-

konzentration im Vollblut. NADH + H^+ ist Meßgrösse und wird aufgrund seiner Absorption bei einer Wellenlänge von 366 nm photometrisch bestimmt.

Hämatokrit (8)

Methode nach Guest und Weichselbaum in R.Richterlich (68)

Prinzip : Zwei Kapillare wurden 3/4 mit Blut gefüllt und das blutfreie Ende mit Spezialkitt verschlossen. Danach wurde 5 min bei 8 000 U/min zentrifugiert. Der Hämatokrit wurde dann mit Hilfe eines Ablesegerätes ermittelt.
Die Messung des Sauerstoffpartialdruckes (Po_2), Kohlendioxydpartialdruck (Pco_2) und pH wurde mit einem pH/Blood-Gas Analyser ausgeführt.

Sauerstoffpartialdruck (Po_2) im Vollblut (57)

Meßprinzip : Der Sauerstoff des Vollblutes verteilt sich auf der Oberfläche einer Po_2 - Elektrode, wo folgende Reaktion abläuft:

$$O_2 + 2\ H_2O + 4\ e^- \longrightarrow 4\ OH^-$$

Jedes Sauerstoffmolekül reagiert mit 4 Elektronen und bewirkt so einen Elektronenfluß, der als Polarisationsstrom gemessen wird. Die Stärke dieses Polarisationsstromes ist ein direktes Maß für den Sauerstoffpartialdruck.

Kohlendioxydpartialdruck (Pco_2) im Vollblut (57, 68)

Meßprinzip : Mit einer Pco_2 - Elektrode wird indirekt über eine pH - Messung der Pco_2 bestimmt. CO_2 diffundiert durch eine Membran, die ionenundurchlässig ist, in eine Kammer. Das Ausmaß der Diffusion ist abhängig von der herrschenden Partialdruckdifferenz. In der Kammer findet folgende Reaktion statt:

$$CO_2 + H_2O \rightleftharpoons H_2CO_3 \rightleftharpoons H^+ + HCO_3^-$$

Die Änderung der H^+ - Konzentration ist äquivalent zur diffundierten CO_2 - Menge und damit zum Kohlendioxydpartialdruck im Vollblut. Die pH - Änderung wird mit einer pH - Elektrode gemessen.

pH im Vollblut (57, 68, 69)

Meßprinzip : Der pH - Wert des Vollblutes wird mit einer Glas-Elektrode gemessen. An den äußeren Schichten der Glasmembran bilden sich Potentialdifferenzen aus, deren Größe vom pH - Unterschied zwischen Meßlösung und der in der Elektrode enthaltenen Pufferlösung abhängt. Meßgröße bei der pH - Messung ist das Potential der Glaselektrode im Verhältnis zu einem konstanten Bezugspotential.

Sämtliche Messungen wurden bei 37° C ausgeführt. Das Vollblut wurde anaerob aus Plastikspritzen für die jeweiligen Messungen verwendet. Vor jeder Meßserie wurden die PO_2 - und Pco_2 - Elektroden mit einem Eichgas konstanter Mischung geeicht. Die pH - Elektrode wurde ebenso mit zwei Pufferlösungen von bestimmter H - Ionenkonzentration geeicht.

Detailliertere Angaben können dem " Operators Manual 213 ph/ Blood Gas Analyser " entnommen werden. Das Gerät stammt von der Firma " Instrumentation Laboratory Inc. " (56, 57).

Die Meßung des Hämoglobingehaltes (Hb) und der Sauerstoffsättigung (HbO_2 %) wurde mit einem Oximeter durchgeführt.

Hämoglobingehalt des Vollblutes (56, 68)

Meßprinzip : Blut wird automatisch hämolysiert und in eine Meßküvette überführt. Photometrisch werden dann folgende Hb - Derivate summarisch erfaßt:

Desoxyhämoglobin (Hb_R)

Oxyhämoglobin (HbO_2)

Carboxyhämoglobin (HbCO)

Diese Formen decken nahezu vollständig das vorhandene Hämoglobin. Das Gerät mißt nicht Methämoglobin und Sulfhämoglobin.

Sauerstoffsättigung des Vollblutes (56, 68)

Meßprinzip : Die Absorptionen der drei Hämoglobinderivate werden einzeln photometrisch erfaßt und deren Konzentrationen ermittelt. Ein Computer errechnet dann über die Formel:

$$HbO_2\ \% = \frac{HbO_2}{Hb_R + HbO_2 + HbCO} \times 100$$

die Sauerstoffsättigung. Durch die Automatisierung ist absolut anerobes Arbeiten möglich. Das Vollblut wurde anaerob aus Plastikspritzen zu den jeweiligen Messungen verwendet. Vor jeder Meßserie wurde das Gerät in Nullstellung gebracht.

Bestimmungsansätze

Glucose im Vollblut (85)

Wellenlänge : 436 nm
Glasküvette : 1 cm Schichtdicke
Temperatur : 25° C
Messung gegen Leerwert

In dieser Reihenfolge wurde in Reagenzgläser pipettiert:

	Leerwert	Standart	Probe
bidest Wasser	0,1 ml	-	-
Glucose - Standart - Lösung	-	0,1 ml	-
Überstand nach Enteiweißung	-	-	0,1 ml
Puffer - Enzym - Chromogen - Gemisch	5 ml	5 ml	5 ml

dann wurden die Ansätze gemischt und bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach 25 - 50 Minuten wurde die Extinktion der Probe (E_p) und die Extinktion des Standarts (E_s) gegen den Leerwert gemessen. Die Berechnung der Glucosekonzentration (C) im Blut erfolgte nach:

$$C = 5{,}55 \times \frac{E_p}{E_s} \quad \text{(m Mol/l Blut)}$$

2,3 Diphosphoclycerat im Vollblut (79)

Wellenlänge : 340 nm
Glasküvette : 1 cm Schichtdicke
Temparatur : 25°C
Messung gegen Wasser

In dieser Reihenfolge wurde in Küvetten pipettiert:

	Probe	Leerwert
NADH - Triethanolamin Pufferlösung	2,5 ml	2,5 ml
ATP - Lösung	0,1 ml	0,1 ml
Proteinfreier Überstand	0,25 ml	-
bidest. Wasser	-	0,25 ml

nach dem Mischen wurde weiter zugefügt:

	Probe	Leerwert
GAPD/PGK - Enzym - Mischung	0,02 ml	0,02 ml
Phosphoglycerat	0,02 ml	0,02 ml

nach dem Mischen wurde 5 Minuten gewartet und dann die Extinktion der Probe (E_P) und des Leerwertes (E_L) jeweils gegen Wasser gemessen. In einem weiteren Schritt wurde zugefügt:

	Probe	Leerwert
Phosphoglycolic - Acid - Lösung	0,1 ml	0,1 ml

wieder wurde gemischt und die Ansätze bei Raumtemperatur für 30 Minuten stehen gelassen. Danach wurden die Extinktionsendwerte der Probe (E_{p2}) und des Leerwertes (E_{L2}) gegen Wasser abgelesen. Die Berechnung der 2,3-DPG-Konzentration erfolgte nun derart:

$$\text{2,3-DPG (mMol/l Blut)} = E_{korr.} \times 7{,}7; \quad \text{wobei}$$

$$E_{korr.} = (E_p - E_L) - 0{,}030 \quad \text{ist.}$$

0,030 stellt einen empirisch ermittelten Korrekturfaktor dar.

Pyruvat im Vollblut (85)

Wellenlänge : 366 nm
Glasküvette : 1 cm Schichtdicke
Temperatur : 25° C
Messung gegen Luft

2 ml Überstand wurde mit 1 ml 0,7 M Trikaliumphosphat gemischt, ca. 15 Minuten in Eis/ Wasserbad stehen gelassen, dann zentrifugiert. 2 ml des neuen Überstandes wurde auf ca. 25° C gebracht und mit 0,2 mMol NADH - Lösung in Küvetten pipettiert. Dann wurde die Extinktion (E_1) dieses Ansatzes gemessen. Nach ungefähr 10 Minuten wurde LDH - Suspension zugemischt, den Stillstand der Reaktion abge-

wartet und Extinktion (E_2) gemessen. Die Pyruvatkonzentration (C) wurde dann aus der Extinktionsdifferenz ($E_1 - E_2 = E$) und 0,94 (mMol/l) als konstantem Faktor nach

$$C = 0{,}94 \times \Delta E_{366} \text{ (mMol/l Blut)}$$ berechnet.

Lactat im Vollblut (85)

Wellenlänge : 366 nm
Glasküvette : 1 cm Schichtdicke
Temperatur : 25° C
Messung gegen Luft

In dieser Reihenfolge wurde in die Reagenzgläser pipettiert:

	Probe	Leerwert
Puffer/Hydrazin - Lösung	2 ml	2 ml
Überstand nach Enteiweißung	-	0,20 ml
Perchlorsäure (ca. 0,6 N)	0,20 ml	-
NAD - Lösung	0,20 ml	0,20 ml
LDH - Suspension	0,02 ml	0,02 ml

diese Ansätze wurden gemischt und genau 1 Stunde bei 25° C im Wasserbad stehen gelassen. Nach dem Umfüllen in Küvetten wurde die Extinktion der Probe (E_p) und des Leerwertes (E_L) gegen Luft gemessen. Die Lactatkonzentration (C) wurde dann aus der Extinktionsdifferenz ($E_p - E_L = \Delta E$) und dem Faktor 10,42 (mMol/l Blut) nach

$$C = 10{,}42 \times \Delta E_{366} \text{ (mMol/l Blut)}$$ berechnet.

Statistische Auswertung [+] (74, 93)

Aus den erhaltenen Meßdaten wurde das arithmetische Mittel ($\bar{x}$) und die Standardabweichung (s) nach folgenden Formeln berechnet:

$$\bar{x} = \frac{x \quad \text{(Summe der Versuchsergebnisse)}}{N \quad \text{(Anzahl der Versuche)}}$$

$$s = \sqrt{\frac{(\bar{x} - x)^2 \quad \text{(Summe der Abweichungsquadrate)}}{N - 1 \quad \text{(Anzahl der Freiheitsgrade)}}}$$

Bei der Prüfung auf Signifikanz der Ergebnisse bestanden folgende Fragestellungen:

1. Ist der Unterschied der Ergebnisse in der gleichen Grundgesamtheit, d.h. ACD - oder Mg-ASP-ACD-Blutkonserven, lagerungszeitabhängig signifikant ?
2. Lassen die Ergebnisse der beiden Versuchsserien am gleichen Lagerungstag einen signifikanten Unterschied feststellen ?

ad 1 wurde der Wilcoxon - Test für Paardifferenzen angewandt

ad 2 wurde der U - Test von Wilcoxson, Mann und Whity angewandt.

Bei beiden Testverfahren wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit (p) von weniger als 5 % entsprechend $p < 0{,}05$ zugrunde gelegt.

[+] Für die statistische Beratung sei Herrn Schubring (Zentrum für Datenverarbeitung) hiermit herzlich gedankt.

E R G E B N I S S E

Vorergebnisse

Die Ergebnisse der bestimmten Vollblutparameter werden zum Vergleich mit den Hauptdaten graphisch mit diesen dargestellt. Es zeigen sich keine gravierenden Unterschiede, wenn man die Meßwerte der Mg - ASP - ACD - Hauptserie zum Vergleich heranzieht. Die bemerkenswerten Unterschiede in der Hauptserie zwischen ACD - und Mg - ASP - ACD - Konservierung werden bestätigt.

Folgende Beobachtungen wurden gemacht:

1. In 4 Konserven fanden sich kugelförmige durch Schütteln nicht auflösbare Gerinnungsthromben.

2. Die Mg - ASP - ACD - Flaschen der Vorserie zeigten regelmäßig am Boden nicht auflösbare undurchsichtige Beläge.

3. Die Überstände der Konserven zeigten mit zunehmender Lagerungszeit häufigere hämolytische Rotfärbungen als in der Hauptserie.

4. Die angefertigten Blutausstriche zeigten ein Blutbild , das mit "viele poikilozytotische Veränderungen und osmotisch bedingte Stechapfelformen" umschrieben werden kann (7).

Eine Messung des osmotischen Druckes in diesem verwendeten Mg - ASP - ACD - Stabilisator ergab einen relativ hohen Wert (es wurde 720 mosmol/l gemessen), der trotz des Verdünnungseffektes durch zugegebenes Blut einen unphysiologischen Wasserverlust der Blutzellen zur Folge haben mußte. Punkt 3 und 4 sind mit ziemlicher Sicherheit Folgen dieses

hohen osmotischen Druckes. Exemplarische Zellform bei diesen Bedingungen ist der beobachtete Stechapfel (7).

Folgerungen für die Hauptserie:
Aufgrund dieser gemachten Beobachtungen veranlaßten wir eine Senkung des osmotischen Druckes, indem wir die Glucose-Konzentration auf die Hälfte reduzierten.

Hauptergebnisse

Glucose (mMol/l)

	ACD-Serie				Mg-Asp-ACD-Serie				
Bt	n	$\bar{x}$	s	u	n	$\bar{x}$	s	u	z
1.	21	20,9	2,7	0,02	21	12,3	1,2	0,4	-
3.	21	19,2	1,8	0,01	21	11,8	1,8	0,001	-
7.	21	17,3	3,3	0,001	21	9,7	1,9	0,001	-
21.	21	15,3	2,5	0,04	19	6,4	1,4	0,005	-
				0,001				0,001	
				0,09				0,001	

In der ACD-Serie ist ein kontinuierlicher Konzentrationsabfall von 1. Bt mit 20,9 mMol/l auf 15,3 mMol/l am 21. Bt aufgetreten. Prozentual macht dies 25 % aus. Zwischen dem 7. Bt mit einer Glucosekonzentration von 17,3 mMol/l und dem 21. Bt ist bemerkenswerterweise kein signifikanter ($p < 0,09$) Abfall mehr feststellbar.

In der Mg-ASP-ACD-Serie, deren Stabilisator von vornherein eine um die Hälfte reduzierte Glucosemenge hatte, ist zwischen dem 1. Bt mit 12,3 mMol/l und dem 3. Bt mit 11,8 mMol/l kein signifikanter ($p < 0,4$) Abfall festzustellen. Von da ab ist eine rapide Abnahme der Glucosekonzentration bis zum 21. Bt auffallend. Die Glucosekonzentration liegt am 21. Bt mit 6,4 mMol/l aber noch über dem im Nativblut gemessenen Normalwert von max. 5,5 mMol/l.

Ein Vergleich der beiden Serien kann nicht angestellt werden, da die Anfangskonzentrationen zu unterschiedlich sind. Bemerkenswert ist allerdings, daß der Abfall der Glucosekonzentration in der Mg-ASP-ACD-Konserve vom 1. Bt zum 3. Bt nicht signifikant ist.

Zeichenerklärung :

Bt = Bestimmungstag
n = Versuchsumfang
$\bar{x}$ = Mittelwert
s = Standardabweichung
p = Signifikanzniveau
u = Signifikante Unterschiedlichkeit der Ergebnisse in Abhängigkeit vom Lagerungszeitraum (dargestellt durch senkrecht geschriebene Zahlen, die das Signifikanzniveau angeben)
z = signifikante Unterschiedlichkeit der Ergebnisse beider Serien am gleichen Bestimmungstag.

2,3-Diphosphoglycerat (mMol/l)

	ACD-Serie				Mg-Asp-ACD-Serie				
Bt	n	$\bar{x}$	s	u	n	$\bar{x}$	s	u	z
1.	21	1,23	0,35	0,3 / 0,001 / 0,001 / 0,001 / 0,001 / 0,001	21	1,30	0,36	0,01 / 0,001 / 0,001 / 0,001 / 0,001 / 0,001	-
3.	20	1,14	0,54		20	1,06	0,46		-
7.	21	0,45	0,33		21	0,46	0,29		-
21.	21	0,06	0,03		20	0,06	0,04		-

Ausgehend von einem Normalwert von 1,6 - 2,6 mMol/l im Nativblut fällt die Konzentration dieses Metaboliten in beiden Serien bis zum 1. Bt von 1,2 im ACD- und auf 1,3 mMol/l im Mg-ASP-ACD- konservierten Blut ab. Zwischen dem 1. und 3. Bt ist im ACD-Blut kein signifikanter ($p < 0,3$) Abfall feststellbar.

Die weitere Abnahme ist in beiden Serien signifikant ($p < 0,001$) und erreicht am 21. Bt sein Minimum von 0,06 mMol/l.

Bis auf die etwas höhere Konzentration am 1. Bt in der Mg-ASP-ACD-Serie ist kein signifikanter Unterschied der beiden Konservierungsmethoden feststellbar.

Pyruvat (mMol/l)

	ACD-Serie				Mg-Asp-ACD-Serie				
Bt	n	$\bar{x}$	s	u	n	$\bar{x}$	s	u	z
1.	21	0,14	0,05	0,001	21	0,10	0,04	0,001	0,005
3.	21	0,19	0,06	0,001	20	0,15	0,06	0,001	0,02
7.	20	0,27	0,08	0,3 / 0,001 / 0,001	20	0,24	0,06	0,001 / 0,09	0,2
21.	21	0,13	0,03	0,001	19	0,19	0,03	0,01	0,001

In der ACD-Serie nimmt die Pyruvatkonzentration kontinuierlich bis zum 7. Bt zu, um danach bis zum 21. Bt unter den Anfangswert abzufallen.

In der Mg-ASP-ACD-Serie ist qualitativ ein ähnliches Verhalten nachweisbar.

Beim Vergleich der beiden Konservierungsarten fällt auf, daß sich am 1. Bt im Mg-ASP-ACD-Blut signifikant weniger Pyruvat nachweisen läßt. Am 21. Bt wiederum ist die Pyruvat-Konzentration hoch-signifikant ($p < 0,001$) höher.

Lactat (mMol/l)

	ACD-Serie				Mg-Asp-ACD-Serie				
Bt	n	$\bar{x}$	s	u	n	$\bar{x}$	s	u	z
1.	18	2,07	0,33	0,001	18	2,20	0,35	0,001	0,4
3.	21	3,53	0,52	0,001 / 0,001	21	3,61	0,49	0,001 / 0,001	-
7.	21	5,91	0,78	0,001 / 0,001	21	6,17	0,75	0,001 / 0,001	0,2
21.	21	9,43	1,10	0,001	19	10,5	0,99	0,001	0,005

Die Lactatkonzentration ist schon am 1. Bt mit 2,07 und 2,20 mMol/l in beiden Serien über den für Nativblut geltenden Normbereich von 0,485 - 0,801 mMol/l. Im Verlauf der 3wöchigen Lagerungsperiode erfolgt eine beachtliche Zunahme bis auf 9,43 mMol/l in der ACD-Serie und 10,48 mMol/l in der Mg-ASP-ACD-Serie. Diese Zunahme ist zwischen allen Lagerungsabschnitten in beiden Serien mit $p < 0{,}001$ hochsignifikant.

Im Vergleich der beiden Serien fällt die signifikant ($p<0{,}001$) höhere Lactatkonzentration im Mg-Asp-ACD-Konservenblut am 21. Bt mit 10,48 mMol/l gegenüber 9,43 mMol/l im ACD-Konservenblut auf.

Lactat/Pyruvat-Quotient

Er gibt das Konzentrationsverhältnis dieser beiden Parameter wieder.

ACD-Serie	Mg-ASP-ACD-Serie
1. Bt $\frac{2,07}{0,14} = 14,8$	$\frac{2,20}{0,10} = 22,0$
3. Bt $\frac{3,53}{0,19} = 18,6$	$\frac{3,61}{0,15} = 24,7$
7. Bt $\frac{5,91}{0,27} = 21,9$	$\frac{6,17}{0,24} = 25,7$
21. Bt $\frac{9,43}{0,13} = 72,5$	$\frac{10,48}{0,19} = 55,2$

Hämatokrit (Hk)

	ACD-Serie				Mg-Asp-ACD-Serie				
Bt	n	$\bar{x}$	s	u	n	$\bar{x}$	s	u	z
1.	16	43,4	2,96	0,4 0,5 0,07	15	32,3	2,34	0,2 0,09 0,005	-
3.	16	43,6	2,16	0,3 0,4	16	32,3	1,99	0,01 0,05	-
7.	18	43,0	3,05		16	31,3	1,92		-
21.	17	42,2	2,90		16	30,0	2,71		-

Der Hk fällt in den ACD-Konserven über die ganze Lagerungsperiode nur geringfügig von 43,4 % auf 42,2 % ab.

Mit 32,3 % ist der Hk in der Mg-ASP-ACD-Serie weit unterhalb des im Nativblut gemessenen Normalwertes von 47 $\pm$ 7 % für Männer und fällt noch geringfügig auf 30 % am 21. Bt ab. Der Unterschied zwischen den beiden Serien ist ausgeprägt.

Hämoglobin (Hb; g/100 ml/Blut)

	ACD-Serie				Mg-Asp-ACD-Serie				
Bt	n	$\bar{x}$	s	u	n	$\bar{x}$	s	u	z
1.	14	15,6	1,44	0,04 0,02 0,05 0,04 0,005 0,4	15	13,6	1,22	0,03 0,04 0,2 0,05 0,7	0,001
3.	15	15,8	1,28		18	13,3	1,80		0,001
7.	12	14,0	1,79		13	12,1	2,11		0,02
21.	15	14,1	1,35		15	12,8	1,10		0,01

Die geringe Zunahme des Hämoglobins vom 1. Bt mit 15,6 g/100 ml bis zum 3. Bt mit 15,8 g/100 ml ist bemerkenswert. Ab dem 3. Bt erfolgt ein steiler Abfall auf 14,4 g/100 ml am 7. Bt. Während der restlichen Lagerungsperiode ist weder ein weiterer Abfall noch Anstieg festzustellen.

In der Mg-ASP-ACD-Serie ist der Abfall zwischen dem 1. Bt mit 13,5 g/100 ml und dem 3. Bt mit 13,3 g/100 ml nicht signifikant. Ein relativ steiler Abfall ist zwischen dem 3. Bt und dem 7. Bt feststellbar. Die Zunahme ist zwischen dem 7. Bt mit 12,1 g/100 ml und dem 21. Bt mit 12,8 g/100 ml nicht signifikant.

Ähnlich zum Hk verhält sich der Hb, wenn die beiden Serien verglichen werden. Ein hochsignifikanter Unterschied in den Hb - Konzentrationen ACD - zu Mg-ASP-ACD - konservierten Blutes ist auffallend. Eine Zunahme der Hb-Konzentration während der Lagerungsperiode 7. Bt bis 21. Bt ist nur in der Mg-ASP-ACD-Serie feststellbar.

pH im Vollblut

	ACD-Serie				Mg-Asp-ACD-Serie				
Bt	n	$\bar{x}$	s	u	n	$\bar{x}$	s	u	z
1.	18	6,70	0,07	0,001	18	6,53	0,08	0,02	0,001
3.	18	6,69	0,08	0,001	18	6,53	0,09	0,005	0,001
7.	18	6,63	0,05	0,01	18	6,46	0,06	0,02	0,001
21.	18	6,48	0,07	0,001	14	6,28	0,06	0,005	0,001

In beiden Serien ist vom 1. bis zum 3. Bt kein signifikanter pH-Abfall feststellbar.

In der ACD-Serie fällt der pH ab dem 3. Bt von 6.69 auf 6,48 am 21. Bt in hochsignifikanter ($p < 0{,}001$) Weise ab.

In der Mg-ASP-ACD-Serie fällt der pH ebenfalls ab dem 3. Bt von 6,53 auf 6,28 in hochsignifikanter ($p < 0{,}005$) Weise ab.

Beim Vergleich der beiden Serien ist über den ganzen Lagerungszeitraum ein pH-Unterschied von bis zu 0,2 pH-Einheiten feststellbar.

Kohlendioxydpartialdruck (P_{CO2})

	ACD-Serie				Mg-Asp-ACD-Serie				
Bt	n	$\bar{x}$	s	u	n	$\bar{x}$	s	u	z
1.	21	126	29,0	0,03 0,05 0,02 0,01 0,4	21	133	28,4	0,1 0,01 0,025 0,06 0,025 0,4	0,4
3.	21	128	25,1		20	142	23,8		0,08
7.	15	158	25,8		15	169	25,5		0,3
21.	15	160	28,9		14	174	32,1		0,2

Schon am 1. Bt wurden mit 126,0 für ACD- und 133,1 mmHg für Mg-ASP-ACD-konserviertes Blut überaus hohe Werte gemessen. Diese steigen im Laufe der Lagerungszeit auf die Maximalwerte von 160,2 bzw. 173,9 mmHg. Diese Werte sind derart hoch, daß ihre genaue Bestimmung in Frage gestellt ist, zumal die Standardabweichung entsprechend hoch ist.

Deutlich fällt die Zunahme zwischen dem 3. und 7. Bestimmungstag aus. In der Mg-ASP-ACD-Serie wurden durchweg höhere Werte gemessen.

Sauerstoffpartialdruck (P_{O_2})

	ACD-Serie				Mg-Asp-ACD-Serie				
Bt	n	$\bar{x}$	s	u	n	$\bar{x}$	s	u	z
1.	21	48,5	13,1	0,3	21	55,6	18,2	0,09	0,2
3.	21	44,5	12,0	0,3 / 0,005 / 0,3	19	50,4	15,6	0,3 / 0,02 / 0,5	0,3
7.	14	41,8	11,8	0,2	14	51,5	14,1	0,3	0,04
21.	15	39,4	12,9	0,4	14	45,8	19,1		0,5

In der ACD-Serie wird am 1. Bt ein P_{O_2} von 48,5 mmHg gemessen, der bis auf 39,4 mmHg am 21. Bt laufend abnahm. Diese Abnahme ist mit $p < 0,005$ hochsignifikant.

In der Mg-Asp-ACD-Serie ist ebenso eine signifikante ($p < 0,02$) Abnahme zwischen dem 1. Bt mit 55,6 mmHg und dem 21. Bt mit 45,7 mmHg festzustellen. Auffallend sind die durchweg höheren Werte in den Mg-ASP-ACD-Konserven.

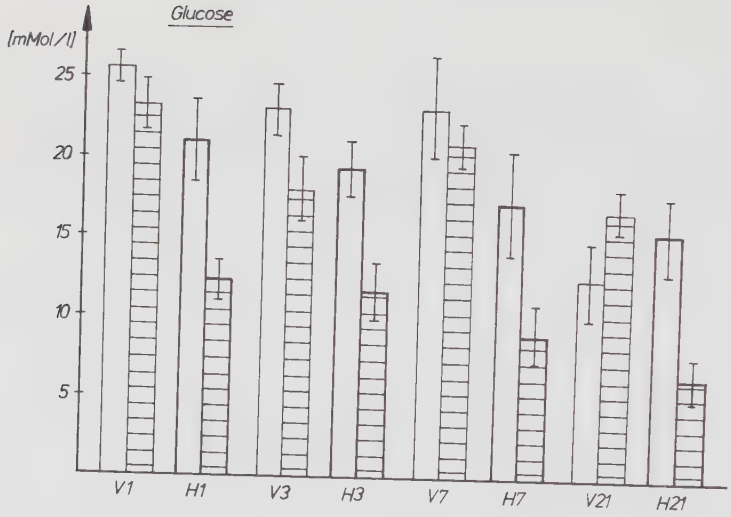
Sauerstoffsättigung (HbO_2 %)

	ACD-Serie				Mg-Asp-ACD-Serie				
Bt	n	$\bar{x}$	s	u	n	$\bar{x}$	s	u	z
1.	21	54,3	15,0		21	61,7	13,4	0,2	0,2
3.	21	54,3	13,7	0,7 / 0,02 / 0,01	21	58,1	14,9	0,09 / 0,05 / 0,2	-
7.	14	45,3	16,4	0,005	14	54,8	14,4	0,02	0,2
21.	18	41,0	13,2	0,2	16	48,4	19,7		0,3

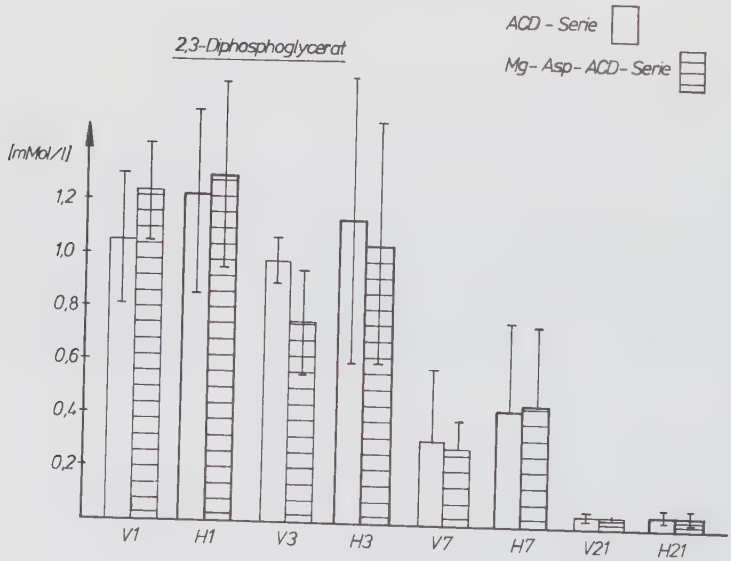
Bei gleichen Werten am 1. Bt und 3. Bt mit 54,3 % fällt auf, daß danach eine signifikante Abnahme auf 43,3 % am 7. Bt und weiter auf 41 % am 21. Bt erfolgt.

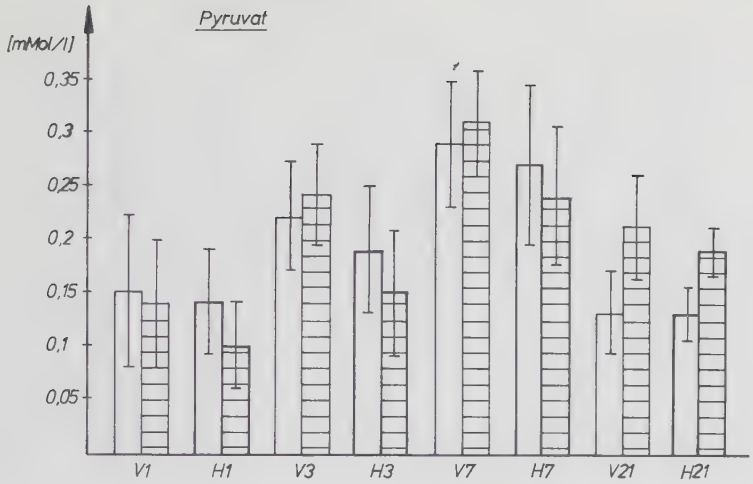
In der Mg-ASP-ACD-Serie ist auch eine Abnahme von 61,7 % am 1. Bt auf 48,4 % am letzten Bt feststellbar. Signifikant ($p < 0{,}05$) ist die Abnahme nur über die gesamte Lagerungsperiode. Besonders augenfällig sind wiederum die durchweg höheren Werte in der Mg-ASP-ACD-Serie.

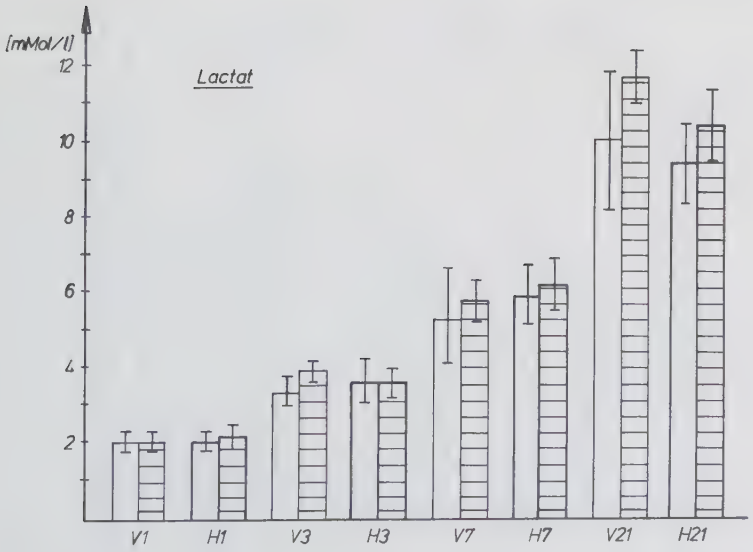
Graphische Darstellung der Ergebnisse

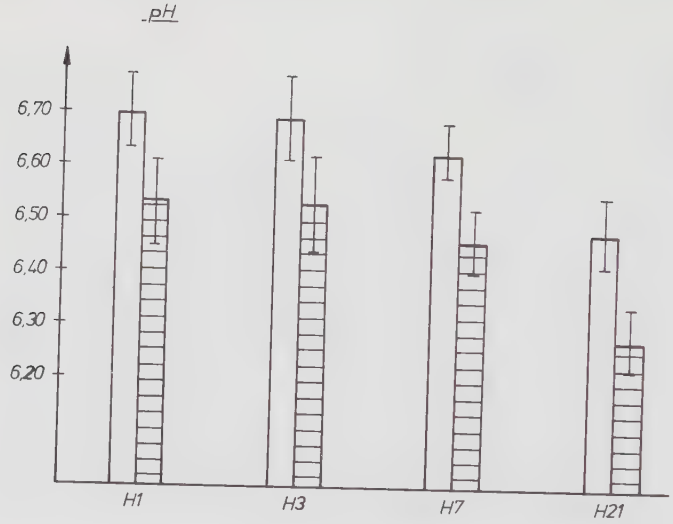


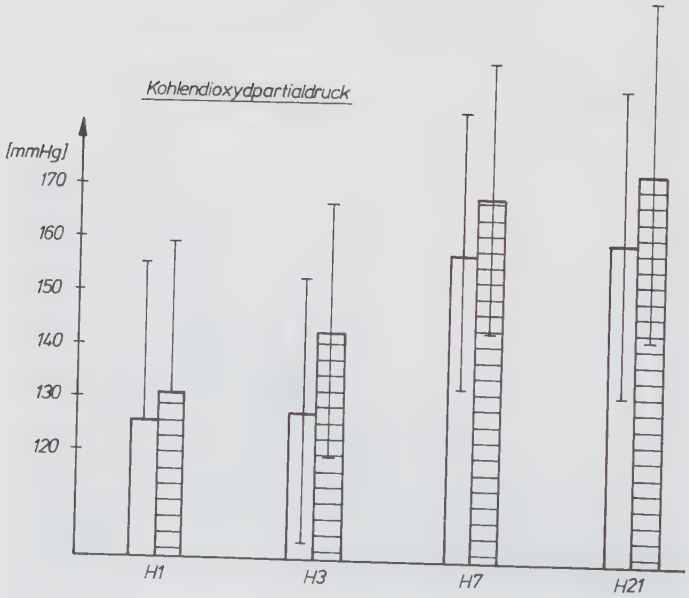
V= Vorserie; H = Hauptserie; 1,3,7,21 = Bestimmungstag



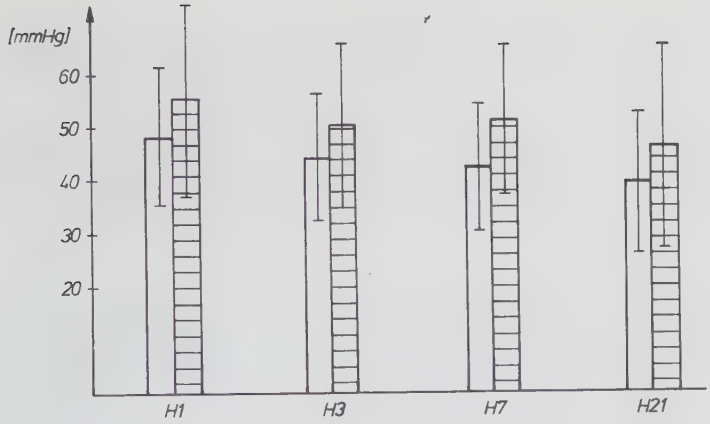

Pyruvat
[mMol/l]
0,35
0,3
0,25
0,2
0,15
0,1
0,05
V1
H1
V3
H3
V7
H7
V21
H21


Lactat
[mMol/l]
12
10
8
6
4
2
V1
H1
V3
H3
V7
H7
V21
H21

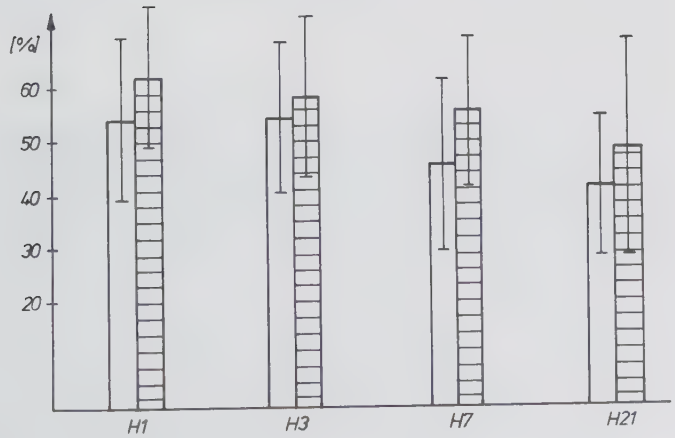

pH
6,70
6,60
6,50
6,40
6,30
6,20
H1
H3
H7
H21


Kohlendioxydpartialdruck
[mmHg]
170
160
150
140
130
120
H1
H3
H7
H21

Sauerstoffpartialdruck



Sauerstoffsättigung



Hämatologie und Gerinnung

Makroskopisch fiel auf:

1. Blutfarbe

   Das Mg-ASP-ACD-konservierte Blut zeigte eine hellere rötliche Farbe als das ACD-konservierte Blut. Dieses Farbverhältnis entspricht dem von arteriellen zu venösem Blut. Der Farbunterschied stellte sich sofort nach Kontakt mit dem Stabilisator ein und blieb über die gesamte Lagerungszeit von 3 Wochen erhalten.

2. Hämolyse (68)

   An der rötlichen Verfärbung des Konservenblutüberstandes konnte man schon makroskopisch feststellen, daß eine stärkere Hämolyse (Hämoglobinkonzentration im Plasma 20 mg/100 ml nach RICHTERLICH Seite 89) stattgefunden hatte. Mit Zunahme der Lagerungszeit nahm auch die Zahl der hämolytischen Konserven zu, wobei die interindividuelle Variation relativ groß war. SCHAIBLE diskutiert die Hämolyse unter den genannten Konservierungsbedingungen an Hand der Parameter Hämoglobin, Kalium, Natrium und Chlor im Serum (75).

3. Gerinnung

   In quantitativ geringem Ausmaß traten Fibrinfäden und unlösbare Niederschläge am Flaschenboden der Mg-ASP-ACD-Konserven auf. Diese Beobachtung konnte auch in der ACD-Konserve gemacht werden, allerdings weniger ausgeprägt.

Mikroskopisch war festzustellen:

Blutzellmorphologie (7)

Die in der Vorserie das Blutbild bestimmenden Stechapfelformen der Erythrozyten fanden sich in stichprobenartig angefertigten Blutausstrichen sehr viel seltener und im Vergleich zur ACD-Serie in etwa gleicher Häufigkeit.

Poikilozytotisch veränderte Zellen, d.h. Erythrozyten, die birnen-, keulen- oder halbmondförmig gestaltet waren, traten mit Zunahme der Lagerungszeit deutlich häufiger auf.

Am Ende der Lagerungsperiode fanden sich auch häufiger Schistozyten, d.h. fragmentierte Erythrozyten. Leukozyten waren schon am 1. Bt nicht mehr im Blutbild auffindbar.

D I S K U S S I O N

a) Methode

Wir strebten bei unserer Untersuchung über die Auswirkungen von Mg-ASP auf die Blutkonservierung einen gleichzeitigen Vergleich zwischen ACD - und Mg-ASP-ACD-konserviertem Blut an. Dazu benötigten wir zwei Konservenserien von jeweils dem gleichen Spenderblut. Untersuchungen von AKERBLUM und ANDREASSON zeigen, daß die interindividuelle biochemische Variabilität von "prestorage" ATP- und 2,3-DPG-Konzentration im Erythrozyten größer ist als ihre intraindividuelle Variabilität. Sie ziehen daraus den Schluß, daß es nötig sei, die Variabilitätsunterschiede bei einer Qualitätsbeurteilung von Blutkonserven mit zu berücksichtigen (3).
Da wir bei unserer Untersuchung die Qualität und Quantitität von biologischen Größen erfassen, beinhaltet das Ergebnis Einfluß und Störfaktoren unterschiedlichster Art. Die Faktoren können bereits in vivo zur Wirkung kommen, wenn beispielsweise die Lactatkonzentration in Blut deutlich erhöht ist, weil der Spender im Eiltempo zur Blutspende gelaufen ist, oder nur die Blutabnahme und/oder Analytik betreffen (43). Dabei interessieren uns verständlicherweise nur Einflüsse, die im Blut selbst wirken. Wie wichtig allein die Lagerung bei der Blutentnahme für Plasmavolumenbestimmungen ist, haben FAWCETT und WYNN nachgewiesen (43).

Wir haben nun alle diese Probleme bei unserer experimentellen Untersuchung berücksichtigt und durch den aufwendigen Vergleich zweier Serien aus jeweils der gleichen Grundgesamtheit (gleiche Spender, gleiche Entnahme-, Lagerungs- und Untersuchungsbedingungen) teilweise sogar umgehen können. Wir glauben so einen Weg gefunden zu haben, der uns einen sicheren Vergleich der beiden Konservierungsmethoden erlaubt.

Um Aussagen über den Kohlenhydratstoffwechsel machen zu können, müssen viele Einzelergebnisse beurteilt werden. Es müssen dabei in ihrem Stoffwechsel zum Teil völlig unterschiedliche Zellen betrachtet werden. Wir bestimmten ausschließlich Vollblutparameter. Es können damit keine zellspezifischen Aussagen gemacht werden. Uns liegt aber auch vielmehr etwas daran allgemein eine Mg-ASP-spezifische Wirkung auf Stoffwechselparameter des Konservenblutes nachzuweisen.

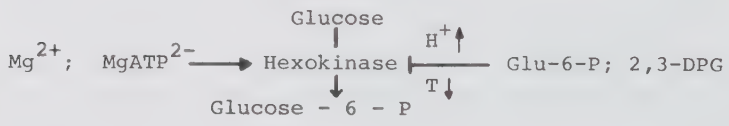
Der Parameter P_{50} wurde nicht bestimmt. P_{50} ist ein Maß für die Sauerstofftransportfunktion des Blutes (47). Es ist zu hoffen, daß dieser Parameter in einer speziellen Einzeluntersuchung unter unseren Versuchsbedingungen bestimmt wird, und zur weiteren Diskussion der Sauerstofftransportfunktion Mg-Asp-ACD-konservierten Blutes hinzugezogen werden kann.

Bei der Festlegung der Bestimmungstage gingen wir von der Überlegung aus, daß die konservierungsbedingten Stoffwechselveränderungen des Blutes hauptsächlich während der ersten Lagerungswoche auftreten. Untermauert wird diese Überlegung durch zahlreiche Untersuchungen über den Stoffwechsel (27, 30, 52, 89). Um die Dynamik dieser Veränderung zu erfassen, legten wir auf den 1., 3. und 7. Tag nach der Blutentnahme die Bestimmungstage fest. Als letzten Bestimmungszeitpunkt wählten wir den 21. Tag nach der Blutentnahme, um nach einer 3wöchigen Lagerungsperiode, die für die ACD-Blutkonservierung als begrenzend angesehen wird (53, 81), die dann bestimmten Parameter zur Qualitätsbeurteilung der Konservierungsmethoden benützen zu können.

b) Kohlenhydratstoffwechsel

Die dem ACD-Stabilisator zugesetzte Glucose dient als Substrat der Glykolyse und wird über diesen Stoffwechselweg unter Energiegewinnung metabolisiert (37, 44, 64). Schon 1941 wurde durch MAIZELS über die Bedeutung der Glucose in der Blutkonservierung berichtet (49). Dieses Kohlenhydrat steht am Anfang einer Stoffwechselkette, die in allen Blutzellen präsent ist und zur anaeroben Energiegewinnung verbraucht wird. Der Energiebedarf zum Aufbau von ATP und anderer energiereicher Phosphate wird in reifen Erythrozyten zu 80 bis 90 % aus dem Abbau von Glucose über diesen Stoffwechselweg gedeckt (60). Das Ausmaß des Glucoseverbrauchs in der Blutkonserve wird fast ausschließlich durch die Glykolyserate der roten Blutzellen bestimmt, weil sie rein quantitativ am bedeutensten sind.

Unsere Ergebnisse lassen einen bemerkenswerten Unterschied zwischen den beiden Konservierungsmethoden erkennen. Der Glucoseverbrauch in der ACD-Serie ist vom 1. Bt bis 21. Bt abnehmend. Gegensätzlich dazu verhält sich die Mg-ASP-ACD-Serie, denn bei ihr ist ein zunehmender Glucoseverbrauch feststellbar. DIeser Befund macht folgende Erklärung wahrscheinlich:
Glucose wird durch die Hexokinase unter ATP-Verbrauch zu Glucose - 6 - P umgewandelt. Diese enzymatische Reaktion, die in der Glykolyse Schrittmacherfunktion hat, unterliegt während der Blutkonservierung vielfachen Einflüssen, wie folgende Skizze verdeutlichen soll (10, 22, 23, 33):



Die Skizze verdeutlicht, daß der MgATP-Komplex einen fördernden Einfluß auf die Hexokinase hat, während ein Temperaturabfall (T ↓), pH-Abnahme, Glucose-6-P und 2,3-DPG einen hemmenden Einfluß haben. Im einzelnen sieht dies so aus: Das Temperaturoptimum der Glykolyse liegt bei 48° C (29, 34, 53). Der Temperaturkoeffizient Q_{10} ist mit 2,1 etwas höher als der des Kontrollenzyms Hexokinase. So geht die Lactatproduktion bei einer Temperaturabnahme von 37° C auf 4° C um 1/3 zurück, während die Kapazität der Hexokinase nur um 1/5 Einbuße erleidet. Die Hemmung der Hexokinase durch Glucose-6-P und Glucose-1,6-P nimmt zu (33).

Unsere pH-Messungen im Vollblut ergaben am 1. Bt 6,7 für die ACD und 6,53 für die Mg-ASP-ACD-Serie. Bei diesen niedrigen pH-Werten kommt es zu einer starken Hemmung der Hexokinasereaktion, deren pH-Optimum bei pH 8,1 bis 8,3 liegt (33). Dazu kommt noch, daß der pH während der 3wöchigen Lagerung durch laufende Milchsäurebildung weiter abnimmt (62, 65). Die Reaktionsbedingungen für die Hexokinase werden also mit zunehmender Lagerungszeit ungünstiger und sind was den pH betrifft, für die Mg-ASP-ACD-Serie, in der im Vergleich zur ACD-Serie ein über die ganze Lagerungsperiode um ungefähr 0,2 Einheiten niedrigerer pH gemessen wurde, am ungünstigsten (23, 30, 51, 59). Daß dieser niedrige pH während der 1. Lagerungswoche einen günstigen Einfluß auf die Erhaltung des ATP hat, kommt auch deutlich in den Ergebnissen von SCHAIBLE zum Ausdruck, wo bis zum 7. Bt in beiden Serien fast konstante ATP-Konzentrationen vorliegen (75).

Neben dem Monosaccharid Glucose ist noch ein MgATP-Komplex an dieser Startreaktion der Glykolyse beteiligt (10, 21). Kompetitiv zu diesem Komplex wirkt das Reaktionsprodukt Glucose-6-P und 2,3-DPG hemmend auf die Hexokinasereaktion (22). Die Enzymaktivität in den Zellen wird vorwiegend durch das Verhältnis MgATP/Glucose-6-P bestimmt. Veränderungen in der Mg^{2+}-, ATP-, Glucose-6-P und 2,3-Diphosphoglyceratkonzentration wirken direkt fördernd oder hemmend

auf die Hexokinaseaktivität (23, 33). Die Glucose-6-P-Konzentration wird entscheidend mitbestimmt durch die Folgeraktionen, deren bedeutenste die Phosphofruktokinase vermittelte ist. Dieses Enzym zeigt eine komplizierte Kinetik und unterliegt einer Vielzahl von fördernden und hemmenden Einflüssen (33, 48, 58). Hemmend wirken ATP, das gleichzeitig als MgATP-Komplex auch Substrat ist, Citrat und Wasserstoffionen. Positive Effektoren sind Fruktose-6-P, AMP und anorganisches Phosphat. Kalium-Ionen sind für diese Reaktion unerläßlich (42). Abnahme der ATP-Konzentration, wie sie in unserer Untersuchung in beiden Serien während der letzten beiden Lagerungswochen erfolgte, vermindert also die Phosphofruktokinasehemmung und damit rückwirkend über eine Abnahme der Glucose-6-P-Konzentration die Hexokinasehemmung (94). Dieser positive Effekt auf die Hexokinasereaktion wird wiederum durch zunehmende Azidifizierung kompensiert (30, 51). Alle diese Einzelbefunde können bis jetzt noch nicht den unterschiedlichen Glucoseverbrauch der beiden Versuchsserien erklären. Denn, die Reaktionsbedingungen für die Hexokinase sind bei niedrigerem pH und geringerer ATP-Konzentration in der Mg-ASP-ACD-Serie schlechter. Es muß also noch ein zusätzlicher Faktor im Spiel sein, der diese Reaktion beeinflußt. Aus zahlreichen Untersuchungen ist bekannt, daß die Kinasen durch Mg-Ionen positiv beeinflußt werden (12, 34, 45, 58, 61, 89). Dieser Effekt wurde vor allem für die Hexokinase - und Phosphofruktokinase in seiner Bedeutung erkannt. JACOBASCH hat festgestellt, daß bei Mg^{2+}-Mangel die Glykolyse um 50 % abnimmt. Optimale Magnesiumbedingungen für die Kinasen werden nur unter der Voraussetzung in Rattenerythrozyten erreicht, wie der gesamte intracelluläre Magnesiumgehalt den enzymatischen Reaktionen zur Verfügung steht. Bezogen auf diese Verhältnisse ergibt sich im Magnesiummangelzustand für die Phosphofruktokinase eine Verminderung der Maximalaktivität um 30 % und für die Hexokinase sogar um 45 % (32, 34). In einer mathematischen Analyse über den Einfluß von ATP und Mg-Ionen auf die Phosphofruktokinase der Erythrozyten dokumentieren OTTO et al., daß ein Anstieg der Mg^{2+}-Konzentra-

tion auch eine Aktivitätszunahme der Phosphofruktokinase zur Folge hat (58). Diese Befunde unterstreichen die Bedeutung von Mg-Ionen als positive Effektoren der Kinasen und machen auch einen Einfluß auf unsere Untersuchungsergebnisse wahrscheinlich. Wir sind der Meinung, daß die unterschiedliche Mg^{2+}-Konzentration in unseren Konserven den Unterschied im Glucoseverbrauch erklärt. Höhere Mg^{2+}-Konzentration fördert die Glykolyse und damit den Glucoseverbrauch (29, 32, 61). Eine am 21. Bt signifikant höhere Lactatkonzentration in der Mg-ASP-ACD-Serie unterstützt noch diesen Befund. Dem könnte man entgegenhalten, daß sich die Mg-ASP-Verbindung des Mg-ASP-ACD-Stabilisators nur im Extracellulärraum des Blutes verteilt und nicht in die Zelle gelangt. Die Befunde von EBEL und GÜNTHER zeigen jedoch, daß abhängig von der extracellulären Glucosekonzentration eine Magnesiumaufnahme in die Erythrozyten erfolgt (18). Zusätzlich hat noch die Aminosäure Aspartat fördernden Einfluß auf den Kationentransport durch die Zellenmembrane. Magnesium bildet mit Aspartat einen Chelatkomplex und soll in dieser Form die Zellenmembrane permeieren können (54, 70, 91).

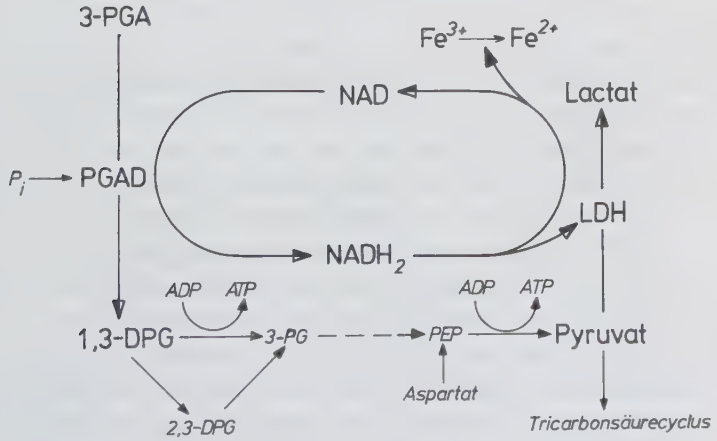
Pyruvat - Lactat

Im letzten Glykolyseabschnitt wird Pyruvat zu Lactat reduziert. Die Elektronen hierzu stammen letztlich aus dem Glyzerin-3-P und werden durch das Coenzym Nicotin-Adenin-Dinucleotid (NAD) übertragen. Diese Hydrierung des Pyruvats zu Lactat erfolgt enzymatisch durch die Lactatdehydrogenase. Diese Enzymreaktion wird ebenso wie bei der Hexokinasereaktion schon aufgezeigt durch Senkung der Temperatur und des pH, sowie durch die Veränderung in der Coenzymkonzentration unter Blutkonservierungsbedingungen beeinflußt (44, 64). Unsere Untersuchungsergebnisse geben für Pyruvat folgendes Bild wieder:
Ausgehend von einer schon am 1. Bt übernormal (Pyruvatkonzentration im Nativblut) erhöhten Pyruvatkonzentration

steigt diese bis zum 7. Bt in beiden Versuchsserien auf das 2-fache ihrer Ausgangskonzentration an. Danach zeigt sich eine hochsignifikante Konzentrationsabnahme. Dieses Verhalten wird durch die Untersuchungsergebnisse von JUNGER bestätigt (36). Dieser deutet seine Ergebnisse so: "Der Abbau des Pyruvat über den Tricarbonsäurecyklus weißer Blutzellen und Thrombozyten werde bis zum 8. Bt zunehmend gestört und führe so zu einem Pyruvatstau." Pyruvat wird in den Tricarbonsäurecyklus eingeschleust und verstoffwechselt (44, 64). Dies kann in reifen Erythrozyten selbst nicht erfolgen, da in ihnen kein vollständiger Tricarbonsäurecyklus mehr vorhanden ist (42, 60, 63). Pyruvat ist jedoch für die Zellenmembrane frei diffusibel und gelangt deshalb entsprechend seinem Konzentrationsgefälle in die übrigen stoffwechselaktiven Blutzellen wie Thrombozyten und Leukozyten, die einen vollständig intakten Tricarbonsäurecyklus besitzen (60). KIM und BALDINI haben nicht nur nachgewiesen, daß in Thrombozyten, die in ACD stabilisiert wurden, bis zum 7. Lagerungstag eine Pyruvatkonzentrationszunahme erfolgt, sondern auch eine schnelle Inaktivierung des Tricarbonsäurecyklus während der Lagerung bei 4° C (39). Auch MURPHY hat nachgewiesen, daß eine Lagerung bei 4° C einen "toxischen" Effekt auf die Thrombozyten hat (55). KONZINETS et al. haben wiederum in Abhängigkeit zur Lagerungszeit die Verteilung der Zellen im Konservenblut untersucht und gefunden, daß bereits nach einer Woche Lagerungszeit eine große Zahl weißer Blutzellen zerstört sind (41). Die Bedingungen für eine mögliche Pyruvatverstoffwechselung werden also mit Zunahme der Lagerungszeit immer schlechter. Dies ist eine Erklärungsmöglichkeit der Mitverursachung an der deutlichen Pyruvatkonzentrationszunahme während der ersten Lagerungswoche. Damit findet jedoch die Konzentrationsabnahme vom 7. Bt bis zum 21. Bt und die hochsignifikant unterschiedliche Pyruvatkonzentration in beiden Serien am gleichen Bestimmungstag keine Erklärung. Unsere Untersuchungsergebnisse lassen diesen Unterschied am 1. Bt und 21. Bt erkennen. Eine hochsig-

nifikante Unterschiedlichkeit ergibt sich auch bei den Lactatergebnissen am 21. Bt, wo die Konzentration in der Mg-ASP-ACD-Serie deutlich höher ist. Die unterschiedliche Glucosekonzentration in den Stabilisatorlösungen hat mit Bestimmtheit keinen Einfluß auf die unterschiedliche Pyruvat- und Lactatkonzentration, weil sich dieses Konzentrationsverhalten auch in den Ergebnissen der Vorserie zeigt. Ob der pH-Wert, die Coenzymkonzentration und/oder die Mg-Ionen einen Einfluß haben, diskutieren wir im folgenden.

Die Pyruvatkonzentration wird hauptsächlich bestimmt durch das Angebot aus den vorgeschalteten Glykolyseschritten und durch die Abnahme bei Weiterreaktion zu Lactat. In diesem Wechselspiel von Zulieferung und Abnahme spielen zwei Enzymreaktionen, die mit Hilfe des gleichen Coenzyms reagieren, eine wichtige Rolle. Ein Schema soll dies verdeutlichen (62, 76).



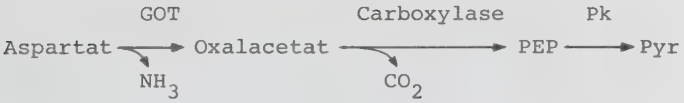
Es ist ersichtlich, daß das Verhältnis Lactat- zu Pyruvatkonzentration abhängig ist vom NAD/NADH-Quotienten, der wiederum bestimmt wird durch die PGAdehydrogenierungsrate einerseits und NADH-vermittelten Methämoglobinreduktionsrate andererseits. Es wird auch deutlich, daß bei der Reduzierung von Methämoglobin zu Hämoglobin reduziertes NADH beteiligt ist und damit nicht mehr für die LDH-Reaktion zur Verfügung steht (44, 62).

Nach Berechnung des Lactat/Pyruvat-Quotienten ergibt sich für unsere Untersuchung folgendes Bild: er ist in der Mg-ASP-ACD-Serie am 1. Bt deutlich größer, am 3. und 7. Bt wenig größer und am 21. Bt erheblich kleiner als in der ACD-Serie,
Ein größerer Quotient kann bedeuten, daß

1. weniger Pyruvat gebildet wurde
2. ein verändertes NAD/NADH-Verhältnis vorlag
3. vermehrt Pyruvat über den Tricarbonsäurecyklus verstoffwechselt wurde
4. vermehrt Pyruvat in Lactat umgewandelt wurde

ad 1: HIRSCH-RAPOPORT hat festgestellt, daß Acidifikation zu einem "Netto outflux" von Metaboliten aus dem mittleren Teil der Glykolysekette führt (29).
In einer anderen Arbeit bemerkt S. RAPOPORT, daß der Lactat/Pyruvat-Quotient zunimmt, wenn der pH erhöht wird (62). Bemerkenswert ist, daß der von ihm bei pH 6,4 festgestellte Quotient mit unserem am 1. Bt in der ACD-Serie festgestellten Wert gut übereinstimmt. Da der pH in unserer ACD-Serie an allen Bestimmungstagen im Vergleich zur Mg-ASP-ACD-Serie um fast 0,2 pH-Einheiten höher liegt, müßte sich auf diese Verhältnisse bezogen in der ACD-Serie ein größerer Lactat/Pyruvat-Quotient ergeben. Dies ist nur am 21. Bt zutreffend.

An dieser Stelle muß auch die Rolle der glukoplastisch wirkenden Aminosäure Aspartat, die in komplexer Verbindung mit Magnesium Bestandteil unseres Mg-ASP-ACD-Stabilisators ist, im Stoffwechsel der Erythrozyten betrachtet werden. Auf die Verhältnisse des reifen Erythrozyten bezogen ist es schwierig ihr eine Rolle zuzuteilen, denn im Laufe seiner Entwicklung vom Retikulozyten her involvieren viele Stoffwechselenzymsysteme zu Gunsten des dann funktionell wichtigeren Hämoglobins (63). Dieser Stoffwechselweg scheint jedoch intakt zu sein (28, 37, 60, 63).



Aspartat wird zu Oxalacetat transaminiert und dieses durch die Oxalacetat-Pyruvat-Carboxylase unter Abspaltung von Kohlendioxyd zu Phosphoenolpyruvat (PEP) umgewandelt. Als Transminasen wurden in Erythrozyten Glutamat-Oxalacetat (GOT) - und Glutamat - Pyruvattransaminasen (GPT) nachgewiesen (63). Die Oxalacetat-Pyruvat-Carboxylase wurde ebenfalls in Erythrozyten bestimmt (60). Die Bedeutung dieses Enzyms scheint in der Schaffung der Möglichkeit Succinat,α -Ketoglutarat und Oxalacetat für die Energieproduktion auszunützen, zu liegen (60). Aspartat kann aus dem Extracellulärraum in die Blutzellen gelangen und dort verstoffwechselt werden (70). Letztlich entsteht dann aus Aspartat Phosphoenolpyruvat, das durch die Pyruvatkinase (Pk) in Pyruvat umgewandelt wird. Aspartat verursacht also eine Pyruvatmehrbildung und liefert nebenbei noch Energie, die in der Pyruvatkinasereaktion in

Form von ATP frei wird. Ob diesem Stoffwechselweg einen entscheidenden Einfluß auf unsere Untersuchungsergebnisse mit einem erheblich kleineren Lactat/Pyruvat-Quotienten am 21. Bt in der Mg-ASP-ACD-Serie beizumessen ist, sei dahingestellt.

Die im Kapitel "Glucose" abgehandelte Bedeutung des Magnesiums als positiver Effektor der Kinasen liegt in einer höheren Glykolyserate. Eine höhere Glykolyserate findet auch Ausdruck in einer vermehrten Pyruvat- und Lactatbildung (72, 94). Unsere Pyruvat- Lactatbestimmungsergebnisse im Mg-ASP-ACD-konserviertem Blut zeigen am 21. Bt eine erheblich höhere Pyruvat- und Lactatkonzentration. JACOBASCH hat die Glykolyse in Erythrozyten von Magnesium-Mangel ernährten Ratten untersucht und festgestellt, daß die Pyruvatkonzentration erhöht war (32). Diesen Befund deutet sie mit einem veränderten NAD/-NADH-Quotienten.

ad 2: Der offenbare Widerspruch am Schluß des vorhergehenden Diskussionsteils ist auch Gegenstand folgender Erörterung: Die Lactatdehydrogenase besitzt eine hohe Kapazität (33). Vermehrt gebildetes Pyruvat wird, wenn genügend reduziertes NADH zur Verfügung steht, in Lactat umgewandelt. Nach KLINGENBERG, BÜCHNER, MINAKAMI und KREBS besteht zwischen dem Pyruvat/Lactat- und dem NAD/NADH-Verhältnis eine quantitativ enge Beziehung (33). Die NADH-Konzentration wird, wie aus dem Schema zu ersehen ist, durch für die Integrität des Erythrozyten äußerst wichtige Methämoglobinreduktion vermindert (35,47). Durch Glykolyse-Hemmversuche wurde nachgewiesen, daß Hemmung der Glyceraldehyddehydrogenase die Methämoglobinreduktion hemmt, obwohl Hemmung der Enolase nicht dazu führt (5, 35). Unter bestimmten

Bedingungen steigt 2,3-DPG während der Reduktion von Methämoglobin an (76). Der 2,3-DPG-Cyklus bietet damit eine Ausweichmöglichkeit, wenn vermehrt Methämoglobin reduziert werden muß. Eine Pyruvataccumulation infolge verminderter Coenzymkonzentration für die Lactatdehydrogenasereaktion wird dadurch vermieden. Ein hoher Lactat/Pyruvat-Quotient kann damit auch Ausdruck einer vermehrten 2,3-DPG-Bildung oder einer verminderten Methämoglobinreduktionsrate sein.

ad 3: Diese Möglichkeit wurde am Anfang diskutiert.

ad 4: trifft deshalb nicht zu, weil die Lactatkonzentration in der ACD-Serie am 1., 3. und 7. Bt kleiner und am 21. Bt sogar hochsignifikant kleiner ist als in der Mg-ASP-ACD-Serie.

Bilanz der Glykolyse (44, 64)

Im vorhergehenden Diskussionsteil wurden wichtige Einzelreaktionen der Glykolyse mit Relevanz auf Glucose, Pyruvat, Lactat und ATP erörtert, die insgesamt ein sich gegenseitig bedingendes System von Reaktionen bilden. Man kann drei funktionell zusammenhängende Reaktionen unterscheiden.

Phosphorylierung der Glucose. In dieser Reaktion wird Glucose durch zwei Moleküle ATP in Fructose-1,6-P umgewandelt und in zwei Triosephosphate gespalten.

Oxydoreduktion. In der Glykolyse treten oxydierende und reduzierende Reaktionen durch das gemeinsame Coenzymsystem NAD-NADH in engste Wechselbeziehung. Die biologische Bedeutung dieses Abschnitts besteht in der Bildung

der energiereichen Verbindung 1,3-DPG und in der Bereitstellung von reduziertem NADH für die Methämoglobinreduktion.

Die Erzeugung von ATP. In den Reaktionen, die der Bildung von 1,3-DPG folgen, wird ATP in zwei Schritten erzeugt: 1. mittels der Phosphoglyceratkinase und 2. mittels der Pyruvatkinase. Die biologische Wichtigkeit dieses Abschnittes besteht in der Phosphatübertragung auf ADP unter Bildung von ATP.
Die Gesamtbilanz. 2 Mole ATP werden für die Phosphorylierung der Glucose verbraucht und 4 Mole durch Umwandlung von ADP in ATP gewonnen. Im intakten Erythrozyten wird die eingesetzte Glucoseenergie zu über 50 % wiedergewonnen.

Zusammenfassung der bisherigen Diskussionsergebnisse:

1. Im Mg-ASP-ACD-konservierten Blut zeigt sich während der 2. und 3. Lagerungswoche eine höhere Glykoliserate die auf den Mg-ASP-Stabilisatorzusatz zurückgeführt wird.

2. Der ATP-Abfall ist in beiden Serien gleich ausgeprägt und ist mit 1/3 in Übereinstimmung zu anderen Untersuchungsergebnissen aus der Literatur. SCHAIBLE diskutiert diesen Parameter im Bezug auf den Energiestoffwechsel des Konservenblutes (75).

3. Im Mg-ASP-ACD-Konservenblut ist am 21. Bt ein erheblich kleinerer Lactat/Puryvat-Quotient feststellbar, was von vielen Faktoren bewirkt sein kann. Daß auch hier Mg-ASP eine Rolle spielt, wurde diskutiert.

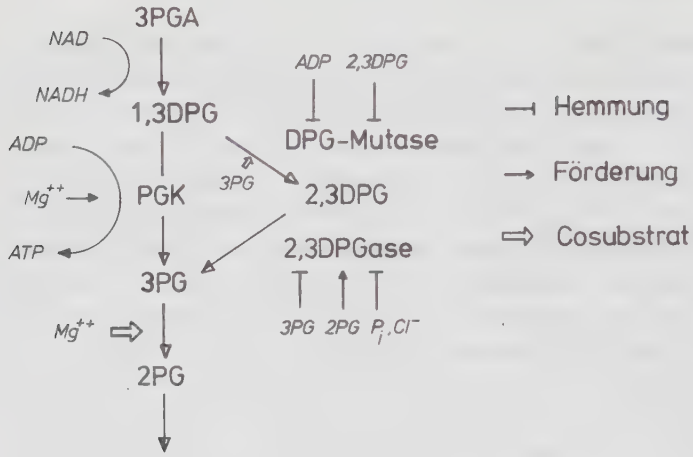
c) Sauerstofftransportfunktion

2,3-Diphosphoglycerat

2,3-DPG wird im Nebenschluß des Glycolyseweges gebildet. Dieser Umweg, auch Diphosphoglyceratcyklus oder nach seinnen Entdeckern RAPOPORT-LUEBERING-Shunt genannt, hat eminente Bedeutung für die Erythrozyten, in denen dieser Metabolit in höherer Konzentration als in allen anderen Zellen nachzuweisen ist. Nachdem 1967 von CHANUTIN und CURNISH (15) und unabhängig von diesen von BENESCH und BENESCH (8) entdeckt worden war, daß 2,3-DPG in Interaktion mit Hämoglobin dessen Affinität zum molekularen Sauerstoff vermindert, hat dieser Metabolit das Interesse von vielen Untersuchern gefunden (53). Mit dieser Entdeckung wurde dann auch erklärt, warum in ACD-konserviertem Blut bereits nach einer Woche Lagerungszeit ein gleichzeitiger Abfall der 2,3-DPG-Konzentration (BARTLETT 1960, SHAFER 1961 (6)) und eine Zunahme der Sauerstoffaffinität zum Hämoglobin erfolgt (VALTIS 1953, KENNEDY 1954 (88).

Unsere Untersuchungsergebnisse zeigen im Mg-ASP-ACD-Konservenblut etwas höhere 2,3-DPG-Konzentration, wenn man sie mit der unserer ACD-Kontrollserie vergleicht. Die Konzentrationsabnahme vom 1. Bt auf den 7. Bt ist in beiden Serien gleich deutlich und deckt sich mit den Ergebnissen anderer Untersuchern (9, 36, 77, 84). Dieses kaum unterschiedliche Verhalten ist unerwartet, da sich die beiden Konservierungsmethoden mit Auswirkung auf den pH und die Glykolyserate deutlich unterscheiden. Die 2,3-DPG-Konzentration in Abhängigkeit von pH und Glykolyserate wird nun diskutiert. Voraus ein Schema zum Diphosphoglyceratcyklus:

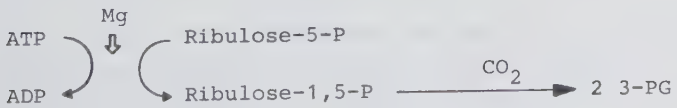
Der Diphosphoglyceratcyklus:



Die 2,3-DPG-Bildung ist determiniert durch das Verhältnis von 1,3-DPG zu 2,3-DPG, während die Phosphoglyceratkinasereaktion bestimmt wird durch die 1,3-DPG-Konzentration und das MgADP/MgATP-Verhältnis (33, 91). So konkurrieren zwei Stoffwechselwege, die wieder von mehreren Faktoren abhängen, miteinander. Abbau und Aufbau beeinflussen das "Steady state" von 2,3-DPG, das primär von der Produkthemmung durch 3-PG und dem Grad der Aktivation durch 2-PG abhängt. Aufhebung der Phosphofruktokinasehemmung und Pyruvatkinase-Aktivitätverminderung führt zu einer erhöhten 2,3-DPG-Konzentration (33, 66, 71, 76). Untersuchungen von BEUTLER und WOOD zeigen deutlich, daß die Erhaltung hoher 2,3-DPG-Konzentrationen abhängig vom pH des Konservierungsmittels ist (9). ROSE hat die pH-Abhängigkeit des 2,3-DPG-Abbaues untersucht und festgestellt, daß das pH-Optimum der 2,3-DPGatase bei 6,4 liegt, wenn anorganisches Phosphat und Chlorid oder 2-PG als Aktivatoren anwensend sind (71). Diese Befunde lassen eine stärkere Abnahme der 2,3-DPG-Konzentration in

der Mg-ASP-ACD-Serie erwarten. Andere Untersucher haben die Bedeutung der ADP-Hemmung untersucht. Sie haben gefunden, daß die 2,3-DPG-Bildung von der ADP-Konzentration abhängt. Die Phosphoglyceratkinasereaktion wird durch ADP gefördert, die Umwandlung von 1,3-DPG in 2,3-DPG durch die Diphosphoglyceratmutase wird gehemmt (33, 66, 76). Nach diesen Befunden sprechen die an allen Bestimmungstagen hochsignifikant niedrigeren ADP-Konzentrationen in der Mg-ASP-ACD-Serie für eine stärkere Hemmung der 2,3-DPG-Bildung. Daß dem nicht so ist, geht aus unseren Ergebnissen, die eher das Gegenteil zeigen, deutlich hervor. Diskutierbar ist folgendes:

Eine höhere Glykolyserate vor der Abzweigung zum 2,3-DPG in der Mg-ASP-ACD-Serie führt zu einem höheren 1,3-DPG-Substratangebot für die Diphosphoglyceratmutasereaktion einerseits und der Phosphoglyceratkinasereaktion andererseits. Daß die letzte Reaktion gleichzeitig 3-PG als Cosubstrat der Mutasereaktion bildet, geht aus dem Schema hervor. Von verschiedenen Untersuchern wurde gezeigt, daß eine experimentelle Erhöhung der 1,3-DPG-Konzentration (2, 5, 82, 86) eine vermehrte Bildung von 2,3-DPG verursacht. BUNN et al. liefern mit ihren Untersuchungsergebnissen einen wichtigen Diskussionsbeitrag, indem sie feststellen, daß eine Erhöhung der Mg^{2+}-Konzentration zu einer Verminderung der freien 2,3-DPG-Konzentration führt und damit die Substrathemmung der Diphosphoglyceratmutase vermindert (13). Am Schluß dieses Diskussionsteils soll kurz mit Hilfe eines Schemas auf einen Magnesium-abhängigen Nebenweg im Erythrozytenstoffwechsel aufmerksam gemacht werden, der eventuell mit eine Rolle spielen könnte für die scheinbar höhere 2,3-DPG-Bildungsrate im Mg-ASP-ACD-Konservenblut (46,60).



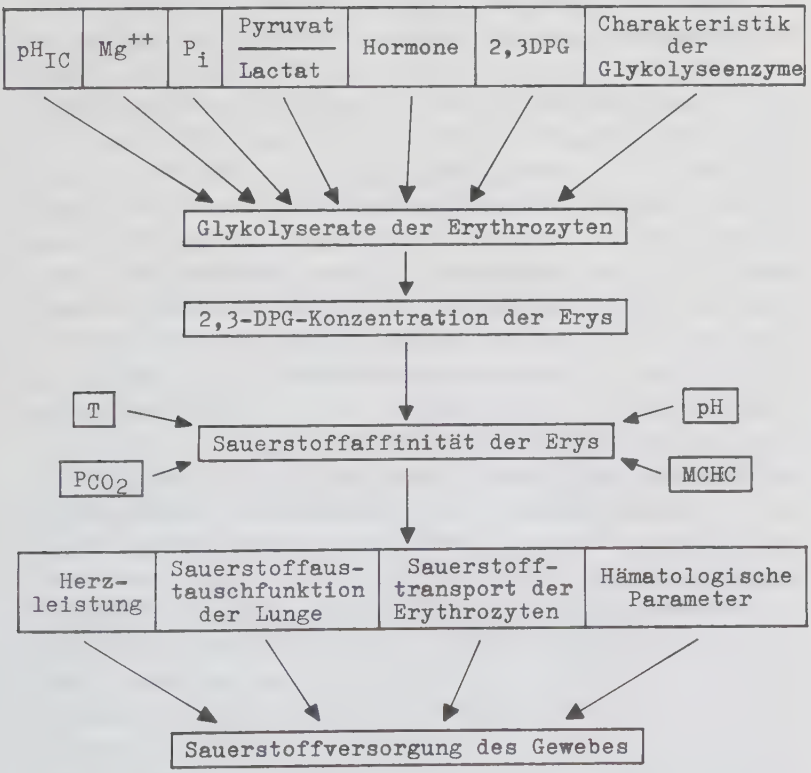
Auf die Bedeutung des gebildeten 3-PG für die 2,3-DPG-Konzentration kann aus dem vorhergehenden Schema geschlossen werden.

Zusammenfassung:

Während der deutliche pH- und ADP-Konzentrations-Unterschied eine geringere 2,3-DPG-Konzentration in der Mg-ASP-ACD-Serie erwarten lassen, führen erhöhte Glykolyserate und stärkere Aktivierung der Stoffwechselnebenwege zu einer insgesamt doch höheren 2,3-DPG-Konzentration in der Mg-ASP-ACD-Serie.

Blutgase

Welchen Einflüssen der Sauerstofftransport unterliegt, soll vorab ein Schema von G.J. BREWER verdeutlichen (10).



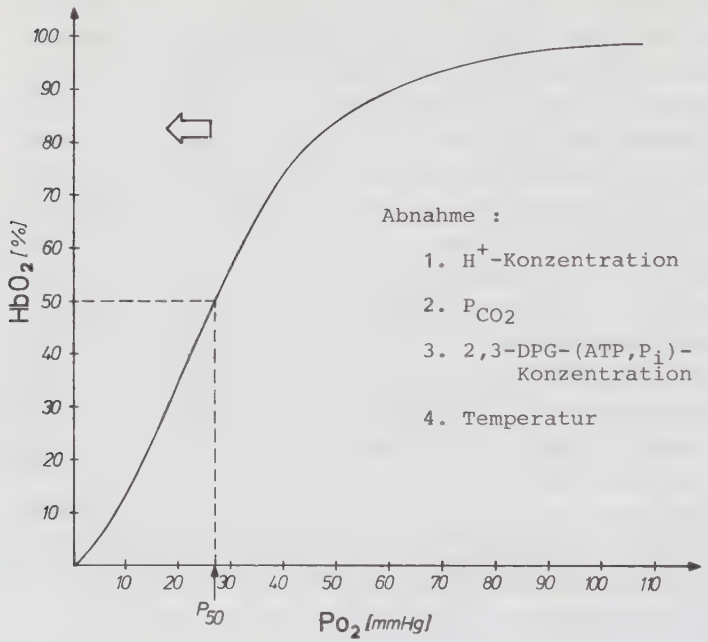
Das Schema soll verdeutlichen, daß der Sauerstofftransport der Erythrozyten von größter Wichtigkeit für die Sauerstoffversorgung atmenden Gewebes ist.

Unsere Untersuchung ergab einen mit der Lagerungszeit abnehmenden pH. Diese Azidifizierung führen wir auf die parallell dazu ansteigende Lactatkonzentration zurück. Die Ergebnisse werden mit Bezug auf die ACD-Serie von anderen

Untersuchern (JUNGER (36), KONTOS (40), SHAFER (77) bestätigt. Der deutliche pH-Unterschied zwischen den beiden Serien ist auf die verschieden sauren Stabilisatorlösungen zurückzuführen. Daß der Unterschied im Laufe der Lagerungszeit größer wird, bestätigt die obige Annahme, daß zunehmende Lactataccumulation zu der festgestellten pH- Erniedrigung geführt habe, denn die Lactat-Konzentration ist tatsächlich am 21. Bt in der Mg-ASP-ACD-Serie signifikant höher. Diese pH-Veränderung wird begleitet von einer kontinuierlichen Zunahme des Kohlendioxydpartialdruckes P_{CO2}, der auch in der Mg-ASP-ACD-Serie deutlich höher ist. Zwischen dem pH und dem Bicarbonatpuffersystem des Blutes besteht über die HENDERSON-HASSELBALCH'sche Gleichung eine genau definierte Beziehung (38). Bicarbonat (H_2CO_3) steht wiederum in einem chemischen Gleichgewicht mit Kohlendioxyd (CO_2). CO_2, das hauptsächlich als Endprodukt des Citratcyklus und bei Decarboxylierungsreaktionen anfällt, diffundiert aus dem Blutplasma in die Erythrozyten, wo es durch das Enzym Carboanhaydrase rasch zu H_2CO_2 hydratisiert wird, H_2CO_3 dissoziiert zu H^+ und HCO_3^-. H^+ wird in erster Linie durch Hämoglobin abgepuffert, während HCO_3^- ins Plasma diffundiert. Bei diesem Vorgang bildet sich ein elektrochemischer Gradient, der eine Chloridverschiebung in die Erythrozyten erforderlich macht (38). Tatsächlich stimmen mit diesen theoretischen Ausführungen unsere Ergebnisse der Serum-Chlorid-Konzentrationsbestimmung überein. Wir haben festgestellt, daß die Serum-Chlorid-Konzentration in der Mg-ASP-ACD-Serie an allen Bestimmungstagen hochsignifikant niedriger waren als in der ACD-Kontrollserie. Vereinfachend kann also gesagt werden: höhere H^+-Konzentration bedingt einen höheren P_{CO2}und der wiederum eine geringere Serum-Chlorid-Konzentration (75).

Nachdem bis hierher der pH und sein Einfluß auf die Höhe des P_{CO_2} diskutiert wurde, sollen nun unter Einbeziehung von 2,3-DPG diese drei Parameter auf ihre Beziehung zum Hämoglobin, dem Molekül, das durch reversible Bindung des Sauerstoffs hauptverantwortlich für seinen Transport (Lunge ⟶ Gewebe) ist, erörtert werden. Die Menge des Sauerstoffs, die bei einem bestimmten Sauerstoffpartialdruck (P_{O_2}) gebunden werden kann, hängt neben der Hämoglobinkonzentration von der Sauerstoffaffinität des Blutes ab. Als Maß für die Sauerstoffaffinität wird derjenige P_{O_2} genommen, der notwendig ist, um Hämoglobin zu 50 % mit O_2 zu beladen (38). Dieser Parameter konnte nicht bestimmt werden. Dafür wurden von uns Sauerstoffpartialdruck und Sauerstoffbeladung des Hämoglobin (HbO_2%) bestimmt. Diese beiden Parameter, die in einer nicht-liniearen Beziehung zueinander stehen, lassen aber nur allgemeine Aussagen über die Sauerstoffaffinität und Lage der Sauerstoffbindungskurve zu, da zusätzliche Faktoren zu berücksichtigen sind. Nach VALERI führt Abnahme folgender Faktoren zu einer Erhöhung der Sauerstoffaffinität und zu einer Verlagerung der Sauerstoffbindungskurve nach links (87).

Eine normale Sauerstoff-Bindungskurve dient zur Verdeutlichung.



Diese Faktoren sind auch maßgeblich beteiligt an der progressiven Zunahme der Sauerstoffaffinität während der Blutkonservierung, wobei dem 2,3-DPG besondere Bedeutung zukommt (20, 78, 80, 89). Unter unseren Konservierungsbedingungen (Temperatur von 4° C, abnehmender pH, zunehmender P_{CO_2} und besonders ausgeprägte 2,3-DPG-Abnahme während der 3wöchigen Lagerungszeit) ist nach folgendem Mechanismus eine zunehmende Sauerstoffaffinität zu erwarten (13, 64, 78, 89):

1. Die Sauerstoffanlagerung ist ein exothermer Vorgang, deshalb führt Temperaturabnahme zu einer Zunahme der O_2-Affinität.

2. Die Sauerstoffanlagerung geht mit einer Protonenfreisetzung einher. Umgekehrt bewirkt eine pH-Senkung Erniedrigung der Sauerstoffaffinität zum Hämoglobin (20). Nach GARBY bewirkt eine Senkung des pH gleichzeitig eine Erhöhung der Affinität des 2,3-DPG zum Hämoglobin.

3. 2,3-DPG ist ein stark geladenes Anion, das vom Deoxyhämoglobin (Hb) wesentlich stärker gebunden wird als von Oxyhämoglobin (HbO_2). Die Bindung erfolgt vor allem durch kationische Gruppen, die sich in der zentralen Höhlung des Hb befinden. Im HbO_2 ist diese Höhlung so verengt, daß das 2,3-DPG in ihr nicht mehr Platz findet. Nach der Reaktionsgleichung

$$HbO_2 + 2,3\text{-DPG} \longrightarrow Hb\text{-}2,3\text{-DPG} + O_2$$

führt eine Abnahme der 2,3-DPG-Konzentration zu einer Zunahme von Oxyhämoglobin und damit zu einer Affinitätszunahme des Sauerstoffmoleküls zum Hämoglobin.

Einen besonders deutlichen Abfall der 2,3-DPG-Konzentration zwischen dem 3. und 7. Bt steht in unseren Versuchen eine ebenso deutliche Abnahme der HbO_2% und des P_{O2} gegenüber. Wie ist nun aber die Tatsache zu verstehen, daß in allen Bestimmungstagen diese Parameter in der Mg-ASP-ACD-Serie konstant höher sind? Besteht ein Zusammenhang zwischen diesen Ergebnissen und dem festgestellten Farbunterschied in den beiden Konserven? Wir sind überzeugt, daß dieser Zusammenhang besteht und daß der Mg-Stabilisatorzusatz Ursache dafür ist. Nach BUNN et al. wird mit zunehmender Mg^{2+}-Konzentration in Gegenwart von 2,3-DPG und/oder ATP die O_2-Affinität zum Hämoglobin erhöht (13). Mg^{2+} bildet mit 2,3-DPG und ATP einen Komplex (4). Komplexes MgDPG und MgATP hat aber nur noch geringe Affinität zum Hämoglobin. Diese Befunde werden durch GERBER et al. bestätigt (24).

Nach ACHILLES liegt der Hauptteil des Mg^{2+} als MgATP-Komplex vor, während 2,3-DPG hautsächlich mit Kalium einen Komplex bildet (1). Als Antwort auf die oben gestellten Fragen kann also gesagt werden, daß das mit Mg-ASP-ACD-stabilisierte Blut eine höhere Sauerstoffaffinität haben muß und die heller rötliche Farbe auf den stärkeren Oxygenierungsgrad des Hämoglobin zurückzuführen ist.

Z U S A M M E N F A S S U N G

Im Mittelpunkt dieser Untersuchung standen der Kohlenhydratstoffwechsel und die Sauerstofftransportfunktion von Konservenblut, das mit einer speziellen Mg-ASP-ACD-Lösung stabilisiert worden war. Als Kontrollserie diente normal stabilisiertes ACD-Konservenblut. Ein Vergleich dieser beiden Konservierungsmethoden ergab während der 3wöchigen Lagerungszeit folgendes:

1. Die Glykolyserate in der Mg-ASP-ACD-Serie ist höher. Dies führen wir auf das zugesetzte Magnesiumaspartat zurück. Magnesium wirkt als positiver Effektor auf fast alle an der Glykolyse beteiligten Enzymreaktionen.

2. Die Wirkung der höheren Magnesiumkonzentration auf die Sauerstoffaffinität wird durch den niedrigeren pH in der Mg-ASP-ACD-Serie abgeschwächt. Magnesiumionen bilden mit 2,3-DPG und ATP einen Komplex und mindern dadurch deren depressive Wirkung auf die Sauerstoffaffinität zum Hämoglobin. Magnesium, dem ACD-Stabilisator zugegeben, wirkt damit negativ auf die Sauerstofftransportfunktion.

Höhere Glykolyerate wirkt sich positiv auf die Blutkonservierung aus, Zusatz von Magnesium-Aspartat verschlechtert allerdings den Sauerstofftransport, sodaß sich insgesamt kein Vorteil gegenüber der ACD-Blutkonservierung ableiten läßt.

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. ACHILLES, W. and CUMME, G.A. : Complex Formation on Glycolytic Metabolites with Mg^{++}, K^{+}, Na^{+} and the Possible Complex Equilibrium Distribution in Human Erythrocytes.
VII. Internationales Symposium über Struktur und Funktion der Erythrozyten, Berlin 1973

2. AKERBLUM, O. and ERICSON, A. : Effects of Inosine, Pyruvate and Inorganic Phosphate on the 2,3-DPG Level in Fresh and Stored Erythrocytes.
VI. Internationales Symposium über Struktur und Funktion der Erythrozyten, Berlin 1970

3. AKERBLUM, O., ANDREASSON, K. and VERDIER DE C.H. : Biochemical Variables Influencing the Storange Ability of Erythrocytes at 4^{o} C.
VII. Internationales Symposium über Struktur und Funktion der Erythrozyten, Berlin 1973

4. ALBERTY, R.A.: Effects of pH and Metall Ion Concentration on the Equilibrium Hydrolysis of Adenosintriphosphate to Adenosindiphosphate.
J. biol. Chem. 243, 1337 - 1343 (1967)

5. ARESE, P., BOSIA, A. and PESCARMONA, G.P. : Über die Wirkung von Ferrizyanid auf die Glykolyse und den 2,3-DPG-Zyklus in menschlichen Erythrozyten.
VII. Internationales Symposium über Struktur und Funktion der Erythrozyten, Berlin 1973

6. BARTLETT, G.R. and SHAFER, A.N. : Phosphorylated Carbohydrate Intermediates of the Human Erythrocytes During Storage in Acid Citrate Dextrose.
J. clin. Invest. 40, 1178 - 1184 (1961)

7. BEGEMANN, H. : Praktische Hämatologie
6. Aufl. Stuttgart: Thieme 1974

8. BENESCH, R. and BENESCH, E. : The Effect of Organic Phosphates from the Human Erythrocytes on the Allosteric Properties of Hemoglobin
Biochem. Biophys. Res. Commun. 26, 162 - 167 (1967)

9. BEUTLER, E., MEUL, A. and WOOD, L. : Depletion and Regenation of 2,3-DPG in Stored Red Blood Cells.
Transfusion 9, 109 - 114 (1969)

10. BREWER, G.J. : The Red Blood Cells
Editet by N. Surgenon, New York: Academic Press 1975

11. BREWER, G.J. : Hexokinase Inhibition by 2,3-DPG and Interaction with ATP and Mg^{++}.
Biochem. Biophys. Acta 192, 157 - 161 (1969)

12. BUC-TEMKINE, H.A. and GARREAU, H. : Allosteric Properties of Human Erythrocyte Pyruvat Kinase
VII. Internationales Symposium über Struktur und Funktion der Erythrocyten, Berlin 1973

13. BUNN, H.F., RANSIL, B.J., CHAO, A. : The Interaction between Erythrocyte Organic Phosphate, Magnesium Ion and Hemoglobin.
J. biol. Chem. 246, 5273 - 5279 (1971)

14. BUNN, H.F., MAY, M.H., KOCHOLATY, N.F. and SHIELDS, C.F.: Hämoglobin Funktion of Stored Blood.
J. clin. Invest. 48, 311 - 321 (1969)

15. CHANUTIN, H. and CURNISH, R.R. : Effect of Organic Phosphate and Inorganic Phosphate on the Oxygen Equilibrium of Human Erythrocytes
Arch. Biochem. Biophys.121, 96 - 102 (1967)

16. CZOK, R. und LAMPRECHT, W. in Bergmeyer, H.U. : Methoden der enzymatischen Analysen, 3. Aufl. Bd. II
Weinheim: Verlag Chemie 1972

17. DAWSON, R.B. : Haemoglobin Funktion in Stored Blood.
Blut 24,78 - 82 (1972)

18. EBEL, H. und GÜNTHER, Th. : Über die Mg-Aufnahme in Erythrozyten und Aszites Tumorzellen.
Z. klin. Chem. und klin. Biochem. 6, 61 - 65 (1969)

19. GARBY, L. und VERDIER DE, C.H. : Binding of ATP and 2,3-DPG to Haemoglobin. Effect on Erythrocytes Glycolysis.
Eur. J. Biochem. 10, 421 - 427 (1969)

20. GARBY, L. und VERDIER DE, C.H. : Affinity of Human Haemoglobin A to 2,3-Diphosphoglycerate. Effect of Haemoglobin Concentration and of pH.
Scand. J. clin. Lab. Invest. 5, 345 - 350 (1969)

21. GARNER, P.S. and ROSETT, Th. : The Influence of Mg^{++}/Nucleotide Rations and Absolute Concentration of Mg^{++}/Adenine Nucleotide on the Obsered Velosity of some Kinase Reactions
FEBS Letters 34, 243 - 248 (1973)

22. GERBER, G. und ELSNER, R. : Über die regulatorische Rolle der Hexokinase in roten Blutzellen.
Folia Haematologica 89, 429 - 435 (1968)

23. GERBER, G., PREISSLER, H., HEINRICH, R., ELSNER, R. and RAPOPORT, S. : A Kinetic Modell of the Hexokinase of the Human Erythrocytes and its Appliction to the Cell VII. Internationales Symposium über Struktur und Funktion der Erythrozyten, Berlin 1973

24. GERBER, G., BERGER, H., JANIG, G.R., RUCKPAUL, K. and RAPOPORT, S. : Interactions among Adenosine-5-triphosphat, 2,3-Diphosphoglycerat. Magnesium and Hemoglobin under Simulated Intercellular Conditons
VII. Internationales Symposium über Struktur und Funktion der Erythrozyten, Berlin 1973

25. GIBSON, J.G. : The Post-Transfusion Survival of Preserved Human Erythrocytes Stored as Whole Blood or in Remeans of Two Isotopes of Radioactive Iron.
J. clin. Invest. 26, 715 - 738 (1949)

26. HARADIN, A.R., WEED, R.J. and REED, C.F. : Changes in Physical Properties of Stored Erythrocytes Relationship to Survival in Vivo.
Transfusion 9, 229 - 237 (1961)

27. HASART, E. und ROIGAS, H. : Temperaturabhängigkeit der Glykolyse.
Folia Haematologica 89, 465 - 468 (1967)

28. HEINITZ, M. : Neuere klinische Gesichtspunkte zur metabolischen Wirksamkeit von Metallchelaten.
9. Kolloquium über Kalium-Magnesium-Aspartat, herausgegeben von Hutschenreuter, K., verlegt bei Dr. Franz Köhler Chemie, Asbach-Bergstraße 1972

29. HELLER, W., JUNGER, H. und BRÜCKNER, R. : Wechselwirkungen von Kalium-Magnesium-Aspartat auf den Kohlenhydratstoffwechsel während der Allgemeinanästhesie.
15. Kolloquium über Kalium-Magnesium-Aspartat (1975),
herausgegeben von Kronschwitz, H.,
St.-Markus-Krankenhaus Anästhesieabteilung, 6 Frankfurt/Main 50

30. HIRSCH-RAPOPORT, J., GERBER, G. and RAPOPORT, S. :
The Time Course of Concentration Changes of Glyclytic Intermediates in Human Erytrocytes Induced by pH Transition.
VII. Internationales Symposium über Struktur und Funktion der Erythrozyten, Berlin 1973

31. HOHORST, H. in Bergmeyer, H.U. : Methoden der enzymatischen Analysen, 2. Aufl. Bd. II
Weinheim : Verlag Chemie 1970

32. JACOBASCH, G. : Einfluß des Phosphates und des Magnesium auf die Regulation der Glykolyse.
Folia Haematologica 89, 376 - 391 (1967)

33. JACOBASCH, G. : Glycolysis der Erythrozyten, aus "Cellular and Molecular Biology of Erythrocytes"
Tokyo: University Press 1974

34. JACOBASCH, G., SYLLM-RAPOPORT, I. und RAPOPORT, S. :
Regulierung der Glykolyse roter Blutzellen im Magnesiummangel.
Acta biol. med. germ. 13, 683 - 692 (1964)

35. JAFFE, E.R. : The Formation and Reduction of Methämoglobin in Human Erythrocytes, aus "Cellular and Molecular Biology of Erythrocytes"
Tokyo: University Press 1974

36. JUNGER, A. : Habilitationsschrift der Eberhard-Karls-Universität-Tübingen aus dem Zentralinstitut für Anästhesiologie

37. KARLSON, P. : Biochemie, 8. Aufl. Stuttgart: Thieme 1972

38. KEIDEL, W.D. : Physiologie, 3. Aufl. Stuttgart: Thieme 1973

39. KIM, B.K. and BALDINI, G. : Glycolytic Intermediates and Adenosine Nucleotides of Human Platelets. Effect of Short-Term Storage at 4° C.
Transfusion 12, 1 - 8 (1972)

40. KONTOS, J.W., FISCHER, W.M. und THEWS, G. : Die Veränderung der Sauerstofftransportfunktion und des Säure-Basen-Status von unterschiedlich stabilisiertem Konservenblut.
Klin. Wschr. 45, 1203 -1208 (1967)

41. KOZINETS, G., BARB, K., KAIL, F. and ANTONI, F. : The Effect of Storing Time on the Cellular Composition and Mitotic Activity of the Peripherial Blood Cells.
Bibl. haemat. 29, 731 - 733 (1966)

42. KÜHN, E., JACOBASCH, G., GERTH, Ch. and RAPOPORT, S. : Influenc of Effectors on the PFK of Erythrocytes from Rats. VII. Internationales Symposium über Struktur und Funktion der Erythrozyten, Berlin 1973

43. LANG, H., RICK, N. und ROKA, L. : Optimierung der Diagnostik, Deutsche Gesellschaft für klinische Chemie, Merk-Symposium; Berlin: Springer Verlag 1973

44. LEHNINGER, A.L. : Biochemie: 1. Aufl. Weinheim : Verlag Chemie 1975

45. LEONARD, M. : Human-Pyruvat-Kinase : Role of Divalent Cation in the Catalytic Mechanism of the Red Cell Enzymes. Biochemistry 11, 4407 - 4414 (1972)

46. LIONETTI, F.J. : Pentose Phosphate Pathaway in Human Erythrocytes, aus "Cellular and Molecular Biology of Erythrocytes" Tokyo: University Press 1974

47. LÖHR, G.W. und WALLER, H.D. : Zur Biochemie der Erythrozytenalterung. Folia Haematologica 78, 385 - 402 (1960)

48. LOWRY, O.H. and PASSONNEAU, J. : Kinetic Evidenc for Multiple Binding Sites on Phosphofruktokinase. J. biol. Chem. 241, 2268 - 2279 (1966)

49. MAIZELS, M. : Preservation of Organic Phosphorus Compounds in Stored Blood by Glucose
Lancet 1, 1941

50. MATTHES, M., KLEINE, N. und ENGBRING, H. : Untersuchungen über Schädigung von Blutkonserven durch Veränderung der Temperatur während der Lagerung und des Transports von Blutkonserven.
Med.Welt 10, 490 - 494 (1964)

51. MINAKAMI, S., TOMODA, A. and TSUDA, S. : Accelaration of Red Cell Glycolysis by Citrat due to the Elevation of Intracellular pH.
VII. Internationales Symposium über Struktur und Funktion der Erythrozyten, Berlin 1973

52. MINAKAMI, S., OHYAMA, H. and YOSIKAWA, H. : Changes of Glycolytic Intermediates of Erythrocytes During Storage in Acid Citrate Dextrose Medium.
Folia Haematologica 91, 115 - 123 (1969)

53. MOLLISON, P.L. : Blood Transfusion in Clinical Medicine.
5. Aufl. Blackwell: Scientific Publications 1972

54. MÜNCHEN, J. : Aspartate: zur klinischen Bedeutung von Inzolen, herausgegeben von Dr. Franz Köhler Chemie, Alsbach/Bergstraße 1970

55. MURPHY, S. and GARDNER, F.H. : Maintenance of Platelet Viability and Functional Integrity During Storage.
Vox sanguinis 20, 427 - 428 (1971)

56. Operators Manual : 182 Co-Oximeter, Instrumentation Lab. Inc 113 Hartwell Avenue 1975

57. Operators Manual : 213 pH/Blood Gas Analyser, Instrumentation , Lab. Inc. 113 Hartwell Avenue 1972

58. OTTO, M., HEINRICH, R., KÜHN, B. and JACOBASCH, G. : Mathematical Analysis of the Influence of ATP and Mg-Ions on the PFK from Erythrocytes. VII. Internationales Symposium über Struktur und Funktion der Erythrozyten, Berlin 1973

59. PREISSLER, H., STEGMANN, E. und ROIGAS, H. : Das Verhalten einiger membrangebundener Enzyme der Erythrozyten während der Blutkonservierung. Folia Haematologica 95, 441 - 448 (1971)

60. RADERECHT, H.J. : Stoffwechsel der Blutkonserven Folia Haematologica 93, 117 - 183 (1969)

61. RAPOPORT, S. : Regulation of Metabolism in Red Cells. Bibl. haemat. 29, 133 - 145 (1966)

62. RAPOPORT, S. : Die Enzymregulation auf dem Niveau der Lactatdehydrogenase. NADH-NADPH-Oxydasen sowie NADP-Oxy-reduktasen in roten Blutzellen. Acta biol. med. germ. 13, 852 - 864 (1964)

63. RAPOPORT, S. : Reifung und Alterungsvorgänge in Erythrozyten.
Folia Haematologica 78, 365 - 381 (1960)

64. RAPOPORT, S. : Biochemie: 6. Aufl. Berlin : VEB-Verlag 1975

65. RAPOPORT, S. : Dimensional, Osmotic and Chemical Changes of Erythrocytes in Stored Blood.
J.clin. Invest. 26, 591 - 631 (1946)

66. RAPOPORT, S., DIETZE, F. und SAUER, G. : Quantitative Aspekte des Diphosphoglyceratcyklus in roten Blutzellen.
Acta biol. med. germ. 13, 693 - 702 (1964)

67. REIMANN, B., MARETZKI, D. and RAPOPORT, S. : Phosphoglycerat-Kinase from Human Erythrocytes.
VII. Internationales Symposium über Struktur und Funktion der Erytrozyten, Berlin 1973

68. RICHTERLICH, R. : Klinische Chemie: 2. Aufl. Basel : S. Karger 1971

69. RICK, N. : Klinische Chemie und Mikroskopie: 2. Aufl. Berlin: Springer Verlag 1973

70. RING, K., GRIMM, E. und SCHWARZ, M. : Wechselwirkung zwischen L-Aspartat und Kaliumionen beim Transport in lebende Zellen 15. Kolloquium über Kalium- Magnesium-Aspartat, herausgegeben von Kronschwitz, H., St.Markus-Krankenhaus, Anästhesie-abteilung, 6 Frankfurt/Main 1975

71. ROSE, Z.B. and LIEKOWITZ, J. : 2,3-Diphosphoglycerate Phosphatase from Human Erythrocytes. J. biol. chem. 245, 3232 - 3241 (1970)

72. ROSE, J. and WORMS, J. : Control of Glycolysis in the Human Red Blood Cells. J. biol. chem. 241, 4848 - 4854 (1966)

73. ROSS, J.F. : The in Vivo Preservation and Posttrans-fusion Survival of Stored Blood. J. clin. Invest. 26, 687 - 703 (1947)

74. SACHS, L. : Angewandte Statistik, 4. Aufl. Berlin : Springer-Verlag 1974

75. SCHAIBLE, H.G. : Inaug.diss.in Vorbereitung

76. SCHRÖTER, W. und HEYDEN, H. : 2,3-Diphosphoglyceratumsatz in menschlichen Erythrozyten. Biochem. 2, 387 - 397 (1968)

77. SHAFER, A.W., TAGUE, L.L., WELCH, M.H. and GUENTER, C.A. : 2,3-Diphosphoglycerate in Red Cells Stored in Acid-Citrate-Dextrose and Citrate- Phosphat-Dextrose: Implications Regarding Delivery of Oxygen. J. Lab. Clin. Med. March 1971, 430 - 437

78. SIGGARD-ANDERSEN, O. : Oxygen-Linked Hydrogen Ion Binding of Human Haemoglobin. Effects of Carbon Dioxide and 2,3-Diphosphoglycerat.
Scand. J. clin. Lab. Invest. 5, 351 - 366 (1971)

79. Sigma Technical Bulletin No 35- Uv: 2,3-Diphosphoglyceric Acid Sigma Chemical Company, Saint Luois Missouri 63 178

80. SOMMERKAMP, H. : Untersuchungen an Blutkonserven : Blutgase und Elektrolyte.
Klin. Wschr. 400, 298 - 303 (1962)

81. SPIELMANN, W. und SEIDL, S. : Einführung in die Immunhaematologie und Transfusionskunde
Weinheim: Verlag Chemie 1972

82. STRAUSS, D., STRIGGE, V., GÜLKE, L., ROIGAS, H. and RADERECHT, H. : The Infuence of pH Variations and Additives on the 2,3-DPG-Level in Stored Erythrocytes:
VII. Internationales Symposium über Struktur und Funktion der Erythrozyten, Berlin 1973

83. STUMIA, M., STRUMIA, P.V. and ENSEBI, A.J. : Effect of Adenosine and Inosine on Adenosintriphosphate and Viability of Red Cells of Blood Stored at 1^{o} C.
J. Lab. Clin. Med. 75, 244 - 249 (1970)

84. SURGERMANN, H.J., DAVIDSON, D.T., VIBUL, S., DELIVORIA-PAPADOPULOS, M., MILLER, L.D. : The Basis of Defective Oxygen Delivery from Stored Blood.
Surgery, Gynécology and Obstetrics, Oct. 1970, 733 - 741

85. Testfibel-Diagnostica: Böhringer Mannheim GmbH

86. SCHEWE, Ch., JACOBASCH, G., GERTH, Ch. and RAPOPORT, S.: The Influence of P_i, Inosine, Pyruvat, Methylen Blue and Fluorid on 1,3-DPG.
VII. Internationales Symposium über Struktur und Funktion der Erythrozyten, Berlin 1973

87. VALERI, C.R. : The Physiological Role of Red Cell 2,3-DPG in Oxygen Transport.
VII. Internationales Symposium über Struktur und Funktion der Erythrozyten, Berlin 1973

88. VALTIS, D.J. and KENNEDY, A.C. : Defective Gas-Transport Function of Stored Red Blood Cells.
Lancet 1, 1954

89. VERDIER De, C.H. and GARBY, L. : Blood Preservation, aus "Cellular and Molekular Biology of Erytrocytes"
Tokyo: University Press 1974

90. WARZEWSKA, M. and GUMINSKA, M. : The Influence of Magnesium Ions on Pyruvatkinase Deficient Red Blood Cells.
Folia Haematologica 102, 576 - 583 (1975)

91. WILKE, H., FUNCK, R. und BRAUN, W. : Untersuchungen zum Kationentransport am isolierten Darm des Meerschweinchens. 15. Kolloquium über Kalium-Magnesium-Aspartat, herausgegeben von Kronschwitz, H., St. Markus-Krankenhaus Anästhesieabteilung, 6 Frankfurt 1975

92. WILLENEGGER, H. : Historisches und Grundsätzliches zur Frage des idealen Stabilisators. Bibl. Hämat. 11, 4 - 15 (1960)

93. WEBER, E. : Grundriß der biologischen Statistik, 7. Aufl. Stuttgart: Fischer Verlag 1972

94. YOSIKAWA, H. and MINAKAMI, S. : Regulation of Glycolysis in Human Red Cells. Folia Haematologica 89, 357 - 375 (1968)

L E B E N S L A U F

Am 7. März 1949 wurde ich, Gerold Kläger als Sohn des Emil Kläger und der Hildegard Kläger, geb. Seeburger in Rottweil a/N geboren. Nachdem ich von 1956 - 63 die Volksschule in meinem Heimatort Harthausen Krs. Rottweil besucht hatte, wurde ich Werkzeugmacherlehrling. Im Herbst 1966 legte ich die Gesellenprüfung ab. Um auf dem zweiten Bildungsweg die volle staatliche Reife zu erlangen, entschloß ich mich am 10. Dez. 1966 in das Collegium Ambrosianum in Stuttgart-Bad Cannstatt einzutreten. Dort legte ich im Juni 1970 das humanistische Abitur ab. Am 1. Juli 1970 wurde ich als Wehrpflichtiger zur Bundeswehr einberufen. Meine Verwendung als Sanitäter trug dazu bei, daß ich mich entschloß, nach Entlassung aus der Bundeswehr Medizin zu studieren.

Im Oktober 1971 nahm ich das Studium der Humanmedizin an der Universität Tübingen auf. Im WS 1974 bestand ich das Physikum. Im WS 1975 legte ich den 1. Teil, im WS 1977 den 2. Teil des Staatsexamens nach der neuen Approbationsordnung ab. Während des praktischen Jahres studierte ich in Stuttgart am Olgahospital Pädiatrie und am Diakonissenkrankenhaus Innere Medizin und Chirurgie. Am 24. April 1978 schloß ich mein 13semestriges Medizinstudium mit dem 3. Teil des Staatsexamens ab.

Mein Berufsziel ist Facharzt für Allgemeinmedizin zu werden.